ISSN 0100-736X

Volume 14 Número 1
Jan/Mar 1994

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, revista bilíngüe trimestral editada pelo Colégio Brasileiro de Patologia Animal, publica trabalhos originais de pesquisa no campo da patologia veterinária no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica. Os autores devem fazer com que seus trabalhos, quando a ela destinados, sejam datilografados de acordo com as instruções publicadas na própria revista.

Editorial Policy

Pesquisa Veterinária Brasileira, a bilingual quarterly journal, edited by the Brazilian College of Animal Pathology, publishes original articles and review papers on all aspects of veterinary science. Contributions on animal pathology and related subjects, mainly diseases of economic importance, are particularly welcomed. Reviews should be written in support of original investigation. The editors assume that papers submitted are not being considered for publication in other journals and do not contain material which has already been published.

Conselho Editorial (*Editorial Board*)

Editor: Jürgen Döbereiner. **Editores Adjuntos:** Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo Barboza de Rezende, Adayr Mafuz Saliba, Jefferson Andrade dos Santos, Carlos Hubinger Tokarnia.

Assessoria Científica (*Advisory Board*)

Carlos Cypriano P. Arteche, Eduardo H. Birgel, Hans Blobel, Pedro Gonçalves Cabral, A.F. Pestana de Castro, Milton de Souza Dayrell, Gerrit Dirksen, Laerte Grisi, Eberhard Grunert, Jorge Almeida Guimarães, Gerhard Habermehl, Ernesto Hofer, Michael R. Honer, Mario Mariano, Anton Mayr, Hans Merkt, Gonzalo E. Moya, Ronaldo Reis, Carlos H. Romero, Ivan B. Machado Sampaio, Hermann G. Schatzmayr, L.-Cl. Schulz.

A correspondência referente à publicação de trabalhos e a outros assuntos técnico-científicos editoriais deve ser endereçada ao (*All editorial communications, including typescripts, should be addressed to*) Dr. Jürgen Döbereiner, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970 (Brasil); Tel. (021) 682-1082; Telex 21-32723 EBPA BR; Fax (021) 682-1230.

A revista é editada dentro do

Programa de Apoio a Publicações Científicas
SCT/PR CNPq FINEP

em colaboração com o
Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ

Figura da capa: Um caso de abaulamento unilateral da face de um bezerro mestiço Gir, com "cara inchada", em conseqüência de periodontite purulenta crônica. O abaulamento assimétrico pode ser explicado pelo desenvolvimento localizado do processo inflamatório peridentário que resulta freqüentemente em periodontite alveolar crônica ossificante e deformação da face, aqui no caso, somente do lado esquerdo. (Rosa & Döbereiner, p. 43)

Cover illustration: A Zebu calf showing an unilaterally driven up maxillary bone due to the chronic purulent periodontitis of "cara inchada" (swollen face). The asymmetric deformation can be explained through the localized inflammatory periodontal process which often leads to chronic ossifying alveolar periodontitis and an enlarged face, here only of the left side. (Rosa & Döbereiner, p. 43)

A revista Pesquisa Veterinária Brasileira está incluída em Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences.

This journal is listed in Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences.

Pesquisa veterinária brasileira = Brazilian journal of veterinary research . – v. 1 - n. 1 - 1981 -
Rio de Janeiro : Colégio Brasileiro de Patologia Animal, 1981 -
v. trim. ISSN 0100-736X

1. Pesquisa veterinária – Periódicos – Brasil. I. Colégio Brasileiro de Patologia Animal, *ed.* II. Título: Brazilian journal of veterinary research.

CDD 636.089
CDU 619:616(81)(05)

Publicidade: NEOTÉCNICA Editora Ltda., Av. Passos 115, s/501
20051-040 Rio de Janeiro, RJ tel. (021) 263-7561

ISSN 0100-736X

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

– uma revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal
A Brazilian Journal of Veterinary Research published by the Brazilian College of Animal Pathology

Volume 14 Janeiro/Março 1994 Número 1

SUMÁRIO

Identification of First Stage Larvae L_1 of Bovine Nematodes. *Reinecke R.K. & Reinecke N.D.* 1-4

Intoxicação experimental por Baccharis megapotamica var. weirii (Compositae) em caprinos. *Barbosa J.D., Armién A.G. & Tokarnia C.H.* 5-13

Aborto em bovinos causado pela ingestão de Ateleia glazioviana (Leg. Papilionoideae). *Stolf L., Gava A., Varaschin M.S., Neves D.S., Mondadori A.J. & Scolari L.S.* 15-18

Avaliação de um teste imunoenzimático competitivo na diferenciação de anticorpos induzidos pela vacina B19, no diagnóstico sorológico da brucelose bovina. *Mathias L.A., MacMillan A.P., Greiser-Wilke I. & Moennig V.* 19-23

Microelementos minerais e a "cara inchada" dos bovinos. *Moraes S.S., Silva G.N. & Döbereiner J.* 25-33

Gastropatia em coelhos experimentalmente induzida pela planta calcinogênica Solanum malacoxylon. *Moraña J.A., Barros S.S., Driemeier D. & Flôres Y.E.* 35-42

Tópico: "Cara inchada" dos bovinos e deficiências minerais 43-48

CONTENTS

Identification of First Stage Larvae L_1 of Bovine Nematodes. *Reinecke R.K. & Reinecke N.D.* 1-4

Experimental poisoning of goats by Baccharis megapotamica var. weirii (Compositae). *Barbosa J.D., Armién A.G. & Tokarnia C.H.* 5-13

Abortion in bovine caused by ingestion of Ateleia glazioviana (Leg. Papilionoideae). *Stolf L., Gava A., Varaschin M.S., Neves D.S., Mondadori A.J. & Scolari L.S.* 15-18

Evaluation of a competitive enzyme immunoassay in the differentiation of antibodies induced by strain 19 vaccine, in the serodiagnosis of bovine brucellosis. *Mathias L.A., MacMillan A.P., Greiser-Wilke I. & Moennig V.* 19-23

Microelements and the periodontal disease "cara inchada" of cattle. *Moraes S.S., Silva G.N. & Döbereiner J.* 25-33

Gastropathy in rabbits experimentally induced by the calcinogenic plant Solanum malacoxylon. *Moraña J.A., Barros S.S., Driemeier D. & Flôres Y.E.* 35-42

Topic: "Cara inchada" dos bovinos e deficiências minerais 43-48

EDITORIAL

O grande estímulo dado pelos órgãos oficiais às Universidades e às Instituições de Pesquisa para incentivar a formação de novos pesquisadores e a consolidação de equipes especializadas, pode-se avaliar pelo número de cursos de Pós-Graduação criados ao longo dos últimos anos no Brasil. Torna-se imperioso manter e elevar cada vez mais a qualidade destes centros de geração de informação científica e treinamento de pessoal, para evitar que estes cursos se tornam meros fornecedores de títulos acadêmicos. É necessário que no seio destas Unidades se desenvolva o espírito da responsabilidade cultural e que se faça dos cursos de pós-graduação núcleos geradores de conhecimentos e tecnologias úteis à sociedade. Espera-se que em cada tese defendida haja um mínimo de resultados objetivos que direta ou indiretamente possam ter aplicação e retorno à comunidade em geral, justificando a sua devida publicação em revista científica.

JÜRGEN DÖBEREINER
Editor

XXIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Recife, 21-25.11. 1994

(Informações: Dr. Lúcio Esmeraldo Honório de Melo, Rua Cons. Teodoro 460, Bairro Zumbi, Recife, PE 50711-030; Tel. (081)227-2517)

XXV Congress of the World Veterinary Association (WVA) and XX Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Yokohama, Japan, 3-9th September 1995

(Secretariat for WVC'95, c/o Sankei Convention, Sankei Bldg 10F, 1-7-2, Chiyoda-ku, Tokyo 100, Japan; Phone +81-3-3273-2084; Fax +81-3-3273-2439)

46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Vitória, ES, 17-22.7.1994

(SBPC, Rua Maria Antonia 294, 4º andar, São Paulo, SP 01222-010; Tel. (011)255-8175, 214-2879; Fax (011) 36-1002)

I Congresso Latino Americano de Micotoxicologia, VIII Encontro Nacional de Micotoxinas, Rio de Janeiro, 25-29.9.1994

(Informações: Congrex do Brasil, Rua Ouvidor 60/414, Rio de Janeiro, RJ; Tel. (021) 224-6080; Fax (021) 231-1492)

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos, em original e *uma* cópia, escritos em português ou inglês, devem ser enviados ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Colégio Brasileiro de Patologia Animal, 23851 Seropédica, Rio de Janeiro. Devem constituir-se de resultados ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Apesar de não serem aceitas comunicações ("Short comunications") sob forma de "Notas Prévias", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve porém conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Corpo Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em TÍTULO, ABSTRACT, SINOPSE, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinações destes três últimos), AGRADECIMENTOS e REFERÊNCIAS:

a) o *Título* do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho;

b) *Abstract*, um resumo em inglês, deverá ser apresentado com os elementos constituintes observados nos artigos em português, publicados no último número da revista, ficando em branco apenas a paginação, e, no final, terá indicação dos "index terms";

c) a *Sinopse* deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, dando os mais importantes resultados e conclusões; será seguida da indicação dos termos de indexação; nos trabalhos em inglês, Sinopse e Abstract trocam de posição e de constituição (veja-se como exemplo sempre o último número da revista);

d) a *Introdução* deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

e) em *Material e Métodos* devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores;

f) em *Resultados* deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos; quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições; é conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos, ao invés de apresentá-los em quadros extensos;

g) na *Discussão* os resultados devem ser discutidos diante da literatura; não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

h) as *Conclusões* devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

i) *Agradecimentos* devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

j) a lista de *Referências*, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando os nomes de todos os autores, o título de cada publicação e, por extenso ou abreviado, o nome da revista ou obra, usando as intruções de "Normalização da Documentação no Brasil" (IBICT-ABNT), "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences) e/ou "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, D.C.).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as normas abaixo:

a) os trabalhos devem ser datilografados em uma só face do papel, em espaço duplo e com margens de, no mínimo 2,5 cm; o texto será escrito corridamente; quadros serão feitos em folhas separadas, usando-se papel duplo ofício, se necessário, e anexados ao final do trabalho; as folhas, ordenadas em texto, legendas, quadros e figuras, serão numeradas seguidamente;

b) a redação dos trabalhos deve ser a mais concisa possível, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados um pouco acima da linha de escrita, após a palavra ou frase que motivou a nota; essa numeração será contínua; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada; todos os quadros e todas as figuras serão mencionados no texto; estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes; Sinopse e Abstract serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional do(s) autor(es);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de dois autores serão citados pelos nomes de ambos, e de três ou mais, pelo nome do primeiro seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita pelo acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos; todos os trabalhos citados terão suas referências completas incluídas na lista própria (Referências), inclusive os que tenham sido consultados indiretamente; no texto não se fará menção do trabalho que tenha servido somente como fonte; este esclarecimento será acrescentado apenas ao final da respectivs referência, na forma: "(Citado por Fulano 19..)"; a referência do trabalho que tenha servido de fonte será incluída na lista uma só vez; a menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita, de preferência, no próprio texto, colocada em parênteses, com citação de nome(s) ou autor(es); nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Flores & Houssay 1917, Roberts 1963a,b Perreau et al. 1968, Hanson 1971);

f) a lista das referências deverá ser apresentada com o mínimo de pontuação e isenta do uso de caixa alta, sublinhando-se apenas os nomes científicos, e sempre em conformidade com o padrão adotado no último número da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As *figuras* (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) deverão ser apresentadas em tamanho maior (cerca de 150%) do que aquele em que devam ser impressas, com todas as letras ou sinais bem proporcionados para assegurar a nitidez após a redução para o tamanho desejado; parte alguma da figura será datilografada; a chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura; desenhos deverão ser feitos com tinta preta em papel branco liso ou papel vegetal, vedado o uso de papel milimetrado; cada figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte superior da figura; fotografias deverão se apresentadas em branco e preto, em papel brilhante, e sem montagem, ou em diapositivos ("slides") coloridos; somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras será em cores; para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

4. As legendas explicativas das figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis e serão datilografadas em folha separada que se iniciará com o título do trabalho.

5. Os *quadros* deverão ser explicativos por si mesmos; cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas; não há traços verticais; os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando de *a* em cada quadro, e as notas serão lançadas logo abaixo do quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço de 12 batidas, à esquerda.

6. Aos autores de cada trabalho publicado serão fornecidas 50 separatas.

Pesq. Vet. Bras. 14(1):1-4, jan./mar. 1994

IDENTIFICATION OF FIRST STAGE LARVAE L_1 OF BOVINE NEMATODES[1]

R.K. REINECKE[2] and NORAH D. REINECKE

SINOPSE.- Reinecke R.K. & Reinecke N.D. 1993. **[Identificação de larvas de primeiro estágio de nematódeos gastrintestinais de bovinos.]** Identification of First Stage Larvae L_1 of Bovine Nematodes. *Pesquisa Veterinária Brasileira 14(1):1–4.* Projeto Saúde Animal Embrapa/ UFRRJ, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

A obtenção de larvas de primeiro estágio no período de 18 horas da coleta de fezes possibilitou a identificação dos principais gêneros de nematódeos que comumente parasitam bovinos. Morfologicamente variaram como segue: — Larvas curtas (média de comprimento de 235-363 μm): *Strongyloides* – o esôfago ocupa aproximadamente 30% do comprimento total da larva, cauda sem bainha (em todas as outras larvas o esôfago é curto e a cauda da bainha presente); *Dictyocaulus* – forma de parênteses ou encurvada, células intestinais negras, bainha da cauda 15 μm; *Trichostrongylus* – larva ligeiramente curva, bainha da cauda 31 μm, triangular. Larvas de comprimento médio (366-376 μm): *Haemonchus* – cauda da larva em forma de cunha, bainha da cauda fina, filamentosa, curva ou enrolada; *Cooperia* – bainha da cauda em forma cônica, extremidade anterior termina com 2 corpos refringentes. Comprimento da larva entre 437-472 μm e largura 22-23 μm ao nível do bulbo esofagiano: *Ostertagia* – células intestinais semi-transparentes de coloração acinzentada ou prateada; *Bunostomum* – células intestinais escuras, marrons ou negras, cauda da bainha ligeiramente curva ou reta em linha com o eixo longo, bulbo esofagiano pode ser proeminente; *Oesophagostomum* – larva muito longa (414 μm), bainha da cauda longa (93 μm) curva ou enrolada.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Larvas primeiro estágio, nematódeos, bovinos.

ABSTRACT.- The recovery of lst stage larvae within 18h of collecting cattle faeces has made it possible to diagnose the common genera of cattle nematode parasites. Morphologically they vary as follows: — Short larvae (mean length 235-363 μm) are: *Strongyloides* – oesophagus 30% total length, no tail sheath (In all other larvae the oesophagus is short and tail sheath, i.e. extension of sheath of the tail beyond the tail tip, is present); *Dictyocaulus* – parenthesis shaped, intestinal cells black, tail sheath 15 μm; *Trichostrongylus* – straight slightly curved, tail sheath 31 μm, triangular. Medium length larvae (366-376 μm): *Haemonchus* – caudal end wedge shaped, tail sheath fine filamentous curved or coiled; *Cooperia* – tail sheath conical, anterior end 2 refringent bodies. Long larvae (437-472 μm and width 22-23 μm at the level of the oesophageal bulb): *Ostertagia* – intestinal cells semi-transparent grey or silver coloured; dark brown or black *Bunostomum* – tail sheath slightly curved or straight in line with the long axis, oesophageal bulb may be prominent; *Oesophagostomum* – very long (414 μm), tail sheath long (93 μm) curved or coiled.

INDEX TERMS: First stage larvae, cattle nematodes.

INTRODUCTION

The recovery of first stage larvae from 15 ml (L_1 15 ml^{-1}) cattle faeces in clean water within 18 h of collection has been described by Reinecke & Fonseca (1992). Whitlock (1959) described the recovery and identification of L_1 of sheep nematodes and Rodrigues & Honer (1985) identified L_1 of *Cooperia* spp (> 90% *C. punctata*), *Haemonchus* spp (*H. placei* and *H. contortus*), *Oesophagostomum radiatum* and *Trichostrongylus* spp. The latter authors stated that the shape and form of the tail of L_1 was more important for identification than the length of the tail, i.e. anus to tip of the tail.

First stage larvae of 2 genera and 6 nematode species of cattle are described in the present paper.

MATERIALS AND METHODS

First stage larvae of *Dictyocaulus viviparus* were recovered from gravid females chopped fine with scissors, sieved through cotton gauze, heat killed at 60°C and fixed in 10% formalin.

Adult females of *Bunostomum phlebotomum, Haemonchus* spp (*H. placei, H. contortus* and *H. similis*) and *Oesophagostomum radiatum*, were collected alive at necropsy and placed in warm saline where they laid eggs. Within 4-6 h at least 20 (and many more *Haemonchus*) females were removed, cut into small pieces with a sharp scissors, sieved through cotton gauze and eggs allowed to sediment in tap water and pooled with the same genus present in saline. They were incubated at 36°C in water, in flat-sided medicine bottles for 18-20h or longer. When > 75% of eggs had hatched, the larvae were heat killed and fixed in 10% formalin.

1 Accepted for publication on June 11, 1993.

2 Consultant of CNPq, 1991/93, Projeto Saúde Animal Embrapa /UFRRJ, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

It is essential to preserve L_1 in 10% formalin or a mixture of a suitable bacteriacide and fungicide. The microorganisms either destroy L_1 or distort their morphology.

Eggs of *Cooperia* spp (mainly *C. punctata), Strongyloides papillosus, Trichostrongylus axei* and *Ostertagia ostertagi* were recovered from faeces of cattle with mixed infections, incubated, heat killed and fixed in formalin described by Reinecke & Fonseca (1992). To confirm the genera present faeces from the same animal(s) were mixed with helminthologically free dry baked cattle faeces, incubated at 30°C for 6-8 days and infective larvae identified microscopically.

A drop of L_1 suspension was pipetted on to a glass slide, a cover slip placed on the suspension and L_1 examined with the aid of a compound microscope[3] and measured with an ocular micrometre[4].

The following were measured: total length, maximum width at the bulb of the oesophagus, length of the oesophagus (anterior end to end of the bulb) and the extension of the tail sheath beyond the tip of the tail of larvae hereafter referred to as the tail sheath. Measurement of 5-14 specimens were recorded in microns (μm), the mean (x) and standard deviation (s.d.) estimated.

[3] Leitz Dialux 20 EB 10x oculars; objectives 6,3x, 16x, 25x and 40x.
[4] Leitz Wetzlar ocular 10x.

Table 1. Dimensions (μm) of first stage larvae of cattle nematodes. Short larvae mean length 235-362 μm

	Dictyocaulus viviparus	*Strongyloides papillosus*		*Trichostrongylus axei*		
		Whitlock (1959)		Whitlock (1959)		Rodrigues & Honer (1985)
	Total length					
n[a]	11	14	205	11	200	–
x[b]	363	235	216	362	342	–
r[c]	294 –	216 –	172 –	345 –	289 –	–
	423	276	252	385	387	–
sd[d]	34	13,7	13,5	14,4	17,6	–
	Width					
n	9	14	–	9	50	–
x	14	14	–	17	19	–
r	11 –	11 –	–	16 –	16 –	–
	17	20	–	18	22	–
sd	2,3	2,5	–	0,83	1,6	–
	Oesophagus: length from the anterior end to the bulb					
n	7	14	–	8	–	–
x	89	72	–	105	–	–
r	67 –	67 –	–	101 –	–	–
	117	87	–	108	–	–
sd	21,5	8,2	–	2,9	–	–
	Tail sheath extension of the tail sheath beyond the tip of the tail					
n	8	–	–	10	–	–
x	15	–	–	31	–	–
r	11 –	–	–	21 –	–	–
	19	–	–	37	–	–
sd	2,3	–	–	6,3	–	–
	Anus to the tip of the tail					
n	–	–	–	–	50	–
x	–	–	–	–	57	–
r	–	–	–	–	52 –	60 –
	–	–	–	–	64	65
sd	–	–	–	–	2,9	–

[a] Nº measured; [b] mean; [c] range; [d] standard deviation.

RESULTS

First stage larvae of the following 6 species and 2 genera were identified:

Bunostomum phlebotomum,
Cooperia spp (*C. punctata* predominantly, less *C. pectinata),*
Dictyocaulus viviparus,
Haemonchus spp (*H. placei, H. contortus* and *H. similis* in descending order of prevalence),
Oesophagostomum radiatum,
Ostertagia ostertagi,
Strongyloides papillosus,
Trichostrongylus axei.

Hereafter the L_1 will be referred to by their generic names.

Measurements are tabulated in Table 1, 2 and 3 and illustrated in Fig. 1 and 2. Larvae were identified on the total length, and length, width, shape and form of the tail tip and other characteristics described below. Larval dimensions by Sprent (1946). Whitlock (1959) and Rodrigues & Honer (1985) are also listed in Table 1, 2 and 3.

Table 2. Dimensions (μm) of first stage larvae of cattle nematodes. Medium larvae mean length 366-376 μm

	Cooperia, C. punctata and *C. pectinata*				*Haemonchus*			
	Whitlock (1959)		Rodrigues & Honer (1985)		Whitlock (1959)		Rodrigues & Honer (1985)	
					H.c.[a]	H.p.[b]	H.c.	H.p.
	Total length							
n	9	50	100	10	171	190	100	100
x	376	330	350	366	345	363	304	369
r	310 –	301 –		322 –	307 –	307 –		
	418	357		414	387	418		
sd	33,8	13,9	21,5	30,3	18,1	19,6	24,6	24,6
	Width							
n	7	50	100	10	50	50	100	100
x	19	17	20	17	19	19	20	19
r	17 –	16 –	–	16 –	17 –	17 –	–	–
	23	19	–	21	23	23	–	–
sd	2,3	0,9	0,53	4,2	1,2	1,4	0,62	0,56
	Oesophagus							
n	6	–	–	10	–	–	–	–
x	107	–	–	102	–	–	–	–
r	106 –	–	–	90 –	–	–	–	–
	113	–	–	120	–	–	–	–
sd	4,4	–	–	11,1	–	–	–	–
	Tail sheath extension of tail sheath beyond the tip of the tail							
n	7	–	–	10	–	–	–	–
x	57	–	–	49	–	–	–	–
r	55 –	–	–	41 –	–	–	–	–
	60	–	–	69	–	–	–	–
sd	1,8	–	–	19,2	–	–	–	–
	Anus to the tip of the tail							
n	–	50	100	–	50	50	100	100
x	–	77	71	–	75	92	60	75
r	–	68 –	–	–	70 –	81 –	–	–
	–	87	–	–	84	101	–	–
sd	–	4,3	5,5	–	3,2	5,5	5,4	6,78

[a] *H. contortus;* [b] *H. placei.*

Table 3. Dimensions (μm) of first stage larvae of cattle nematodes. Long larvae mean length 379-472 μm

	Bunostomum phlebotomum	*Ostertagia ostertagi*		*Oesophagostomum radiatum*	
		Sprent (1946)		Rodrigues & Honer (1985)	
	Total length				
n	10	–	10	8	100
x	472	–	379	437	401
r	420 –	350 –	328 –	414 –	
	517	450	460	471	–
sd	28,6	–	35,7	17,7	40,27
	Width				
n	9	–	11	7	100
x	23	–	22	22	21
r	16 –	–	19 –	18 –	–
	25	–	25	24	–
sd	2,9	–	1,73	2,4	0,90
	Oesophagus				
n	5	–	10	7	–
x	109	95	111	108	–
r	104 –	–	100 –	92 –	–
	120	–	129	115	–
sd	7,1	–	9,47	8,4	–
	Tail sheath-extension of tail sheath beyond the tip of the tail				
n	6	–	10	7	–
x	42	–	48	93	–
r	38 –	–	37 –	81 –	–
	55	–	62	101	–
sd	10,7	–	11,2	8,4	–
	Anus to the tip of the tail				
n	–	–	–	–	100
x	–	100	–	–	101
r	–	–	–	–	–
sd	–	–	–	–	14,96

Short larvae (Mean length less than 363 μm):

(i) *Strongyloides* (Fig. 1A): *Oesophagus* 30% of the length of the larva, fine 14 μm wide, mean length 235 μm and *no tail sheath*. Live larvae were very active.

All other larvae had a short oesophagus and a tail sheath which varied in length and shape. Whitlock (1959) and Rodrigues & Honer (1985) measured the length of the entire tail, i.e. anus to tip of the tail sheath. This will always be longer than the tail sheath described in the present paper.

(ii) *Trichostrongylus* (Fig. 1B and 2B): Mean length 362 μm, curved or straight, intestinal cells light grey, tail sheath mean length 31 μm, pencil point or elongated triangle.

(iii) *Dictyocaulus* (Fig. 1F and 2F): Mean length 363 μm, intestinal cells dark brown or black. The mean length of the tail sheath was only 15 μm, the tail tip usually withdrawn. These larvae were usually curved, i.e. parenthesis shaped and live L_1 were very sluggish.

Medium length larvae (mean length 366-376 μm):

(i) *Haemonchus* (Fig. 1D and 2D): Mean length 366 μm and tail sheath 49 μm. The mean width was 17 μm at the oesophageal bulb. From the anus posteriorly larvae narrowd to the tail tip giving the body a wedge shape caudally. The tail sheath was very fine filamentous usually curved or even coiled. Whitlock (1959) and Rodrigues & Honer (1985) differentiated between *H. contortus* and *H. placei* (Table 1). *H. contortus* tail was set at a slight angle to the body while *H. placei* was a finely elongated tip which continued along the long axis of the body (Rodrigues & Honer 1985).

(ii) *Cooperia* spp (Fig. 1C and 2C): Mean length 375 μm tail sheath 57 μm with a conical tip as described by Rodrigues &

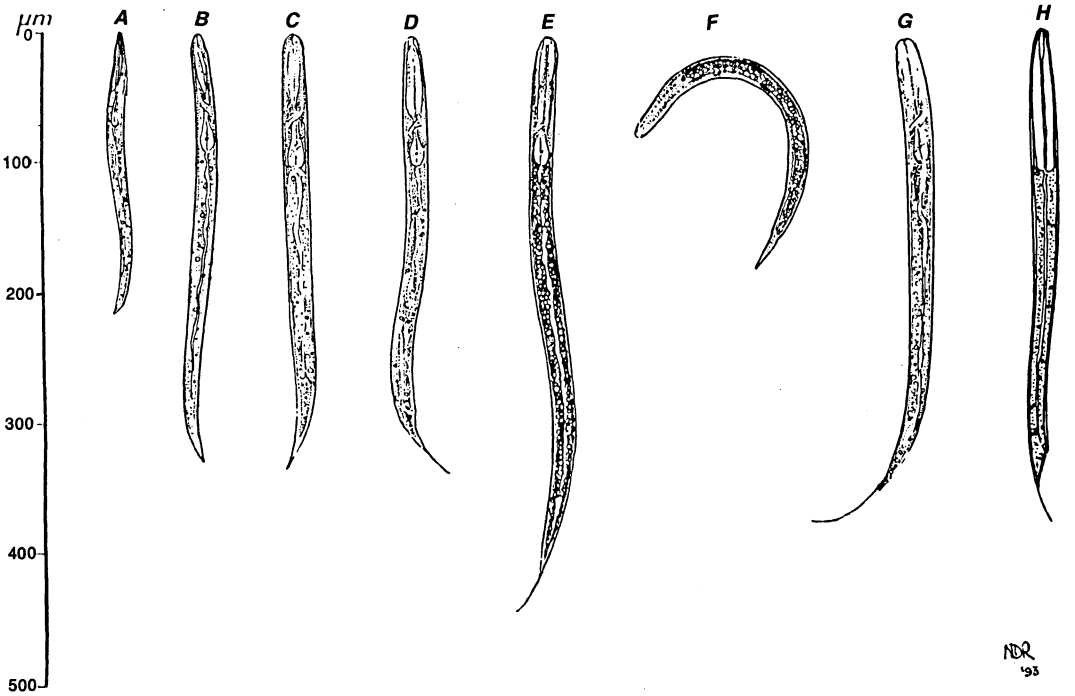


Fig. 1. A - *Strongyloides papillosus;* B - *Trichostrongylus axei;* C - *Cooperia* spp; D - *Haemonchus placei;* E - *Bunostomum phlebotomum;* F - *Dictyocaulus viviparus;* G - *Oesophagostomum radiatum;* H - *Ostertagia ostertagi.*

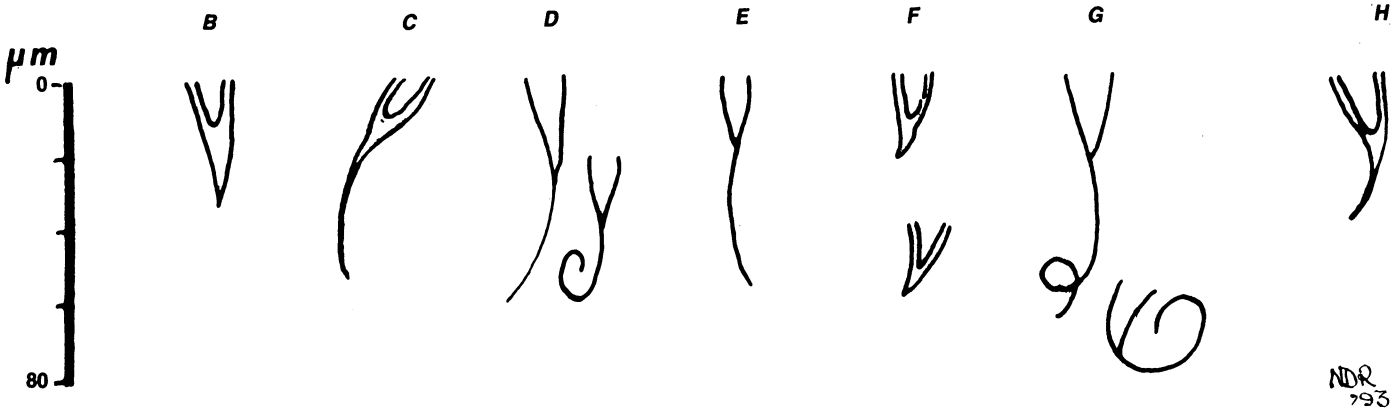


Fig. 2 Tail sheaths of first stage larvae of cattle nematodes: B - *T. axei;* C - *Cooperia* spp; D - *Haemonchus;* E - *B. phlebotomum;* F - *D. viviparus;* G - *O. radiatum*; H - *O. ostertagi.*

Honer (1985). Anteriorly on either side of the mouth were 2 refringent bodies, i.e. the anterior end glowed when examined microscopically. The present author was unable to confirm Rodrigues & Honer (1985) observation that there were: "very marked cuticular striations".

Long larvae (mean length 379-472 µm and broad 22-23 µm at the bulb of the oesophagus):

(i) *Ostertagia* (Fig. 1H and 2H): This wide stout larvae had clear intestinal cells a mean length of 379 µm and tail sheath 48 µm long; usually curved which ended in a blunt tip. Whitlock (1959) citing Threlkeld (1946) gave a total length ranging from 300-500 µm. In many respects the buccal capsule resembled the 3rd parasitic stage of *O. ostertagi* described by Douvres (1956). The mouth had a medial tubular buccal capsule starting with 2 cuticular thickenings anteriorly continuing with thin parallel walls and ending in a funnel shape posteriorly. *Oesophagostomum* had a similar mouth but there are no anterior cuticular thickenings.

(ii) *Bunostomum* (Fig. 1E and 2E): These larvae were usually straight or slightly curved with black or dark brown intestinal cells and the oesophageal bulb was often prominent. The mean length was 472 µm and tail sheath 42 µm and either in line with the body axis or slightly curved.

(iii) *Oesophagostomum* (Fig. 1G and 2G): The mean length was 437 µm and tail sheath 93 µm. The tail sheath was fine either curved, coiled or even watch-spring shaped. The mouth wall consisted of 2 lines opening anteriorly and intestinal cells were dark but not as dark as *Bunostomum* or *Dictyocaulus.*

DISCUSSION

The main advantage of differentiating L_1 to the level of genus is that a diagnosis can be made 18-20h after the specimens are collected. In the McMaster faecal egg counting technique e.p.g., egg counts were done using a mass of 4g of faeces, and if negative, the specimen was discarded. Using Visser filters 15 ml of faeces were used, eggs hatched in clean water at 37-40°C in 18h and L_1 diagnosed the following day (Reinecke & Fonseca 1992), not a week later, before third stage larvae were harvested from coprocultures to make a generic diagnosis with standard egg counts.

Acknowledgements.- I wish to thank Marcelo A. Figueiredo, my MSc student, for translating the abstract into Portuguese, and Mrs. Angela Cesar do Nascimento Pereira for typing the manuscript.

REFERENCES

Douvres F.W. 1956. Morphogenesis of the parasitic stages of *Ostertagia ostertagi*, a nematode parasite in cattle. J. Parasitol. 42:626-635.

Reinecke R.K. & Fonseca A.H. 1992. First stage larvae per 15 ml (L_1 15 ml^{-1}) calf faeces for the diagnosis of nematode parasites ante mortem. Pesq. Vet. Bras. 12(1/2):43-44.

Rodrigues Maria L. & Honer R.M. 1985. The collection and identification of first stage larvae of bovine gastrointestinal nematodes: modification of the Whitlock technique (1959). Pesq. Vet. Bras. 5(1):1-3.

Sprent J.F.A. 1946. Studies on the life-history of *Bunostomum phlebotomum* (Railliet, 1900), a hookworm parasite of cattle. Parasitol. 37:192-201.

Whitlock H.V. 1959. The recovery and identification of the first stage larvae of sheep nematodes. Aust. Vet. J. 35:310-316.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Baccharis megapotamica* var. *weirii* (Compositae) EM CAPRINOS[1]

JOSÉ DIOMEDES BARBOSA[2], ANÍBAL GUILLERMO ARMIÉN[3] e CARLOS HUBINGER TOKARNIA[4]

ABSTRACT.- Barbosa J.D., Armién A.G. & Tokarnia C.H. 1994. **[Experimental poisoning of goats by Baccharis megapotamica var. weirii (Compositae).]** Intoxicação experimental por Baccharis megapotamica var. weirii (Compositae) em caprinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira 14(1): 5–13*. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

The toxicity of the shoots of *Baccharis megapotamica* var. *weirii* to goats was shown in an experiment in which the mature flowerless plant, collected in Lages, Santa Catarina, was administrated orally to 11 goats. Doses of 2 g/kg or more of the fresh plant caused the death of all goats. The first symptoms were observed from 4 to 13 h after the beginning of administration of the plant. Death occurred in a period of 10h54min to 112h28min after ingestion. The clinical-pathological changes were characterized by disturbance of the digestive tract. The main symptoms were anorexia, ruminal atonia, increase of the intestinal peristaltism, modification in the consistency of the faeces, tachycardia and dispnoea; also observed were restlessness, depression, muscular tremor, dehydration, sialorrhoea and in the terminal phase hypothermia. The alterations in the ruminal fluid were acidosis with decrease of the bacterial activities and death of the protozoa. Post-mortem findings consisted of oedema and congestion of the mucosa of the rumen, reticulum, abomasum and parts of the small and large intestine. Histologically the lesions were characterized by necrosis with picnosis and karyorrhexia of the mucosal epithelium of the forestomachs, abomasum and intestines and the lymphoid tissue of the spleen as well as the external lymphnodes.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Baccharis megapotamica* var. *weirii*, Compositae, experimental plant poisoning, goats.

SINOPSE.- Foi demonstrada a toxidez para caprinos das partes aéreas frescas de *Baccharis megapotamica* var. *weirii* através de experimentos, em que a planta adulta, sem inflorescências, colhida no Município de Lages, Santa Catarina, foi administrada por via oral a 11 caprinos. Doses a partir de 2 g/kg da planta fresca causaram a morte de todos os caprinos. Os primeiros sintomas foram observados, de 4h a 13h após o início da administração da planta e a morte dos animais sobreveio num período de 10h54min a 112h28min após o começo da administração da planta. O quadro clínico-patológico caracterizou-se por perturbações do trato digestivo com evolução aguda. Os principais sintomas foram anorexia, atonia ruminal, aumento do peristaltismo intestinal, diminuição da consistência das fezes, taquicardia e dispnéia; também houve inquietação, depressão, tremores musculares, desidratação, sialorréia e, na fase terminal, hipotermia. As alterações no fluido ruminal caracterizaram-se por um quadro de acidose, com diminuição das atividades bacterianas e morte dos protozoários. Os achados de necropsia consistiram em edema e congestão da mucosa do rúmen, retículo, abomaso e em segmentos dos intestinos delgado e grosso. Histologicamente as lesões se caracterizaram por necrose com picnose e cariorrexia do epitélio da mucosa dos pré-estômagos, abomaso, intestinos e do tecido linfóide do baço e de linfonodos externos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Baccharis megapotamica* var. *weirii*, Compositae, intoxicação experimental por planta, caprinos.

INTRODUÇÃO

O gênero *Baccharis*, da família Compositae (sin. Arteraceae) é constituído por aproximadamente 350 espécies, todas nativas das Américas. No Brasil são conhecidas cerca de 120 espécies, distribuídas em maior concentração na Região Sul (Barroso 1976). Das plantas do gênero *Baccharis*, somente *B. coridifolia* e *B. megapotamica* foram, até o momento, confirmadas como plantas tóxicas para bovinos, ovinos e coelhos (Tokarnia & Döbereiner 1975, 1976, Döbereiner et al. 1976, Tokarnia et al. 1992a,b, Armién et al. 1993); *B. coridifolia* é a mais importante do ponto de vista pecuário. Em relação a *B. megapotamica*, da qual existem duas variedades, a var. *me-*

1 Aceito para publicação em 28 de junho de 1993.
Parte do trabalho de Tese de Mestrado do primeiro autor, submetido à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) em 12 de fevereiro de 1993.

2 Setor de Grandes Animais, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970.
3 Médico Veterinário, bolsista da FAPERJ, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970.
4 Depto Nutrição Animal e Pastagens, UFRRJ; bolsista do CNPq (305010/76-VT).

gapotamica e a var. *weirii*, só foram feitas observações e obtidos históricos sobre a intoxicação espontânea pela var. *weirii*, em bovinos (Tokarnia et al. 1992a) e ovinos (Gava 1992).

Como princípios tóxicos de *B. megapotamica*, como também de *B. coridifolia*, têm sido identificados tricotecenos macrocíclicos (Kupchan et al. 1977, Busam & Habermehl 1983), em *B. megapotamica*, entretanto, sob a forma de bacarinóides. A origem dos tricotecenos em *B. megapotamica* e *B. coridifolia* ainda não está totalmente esclarecida. Tricotecenos são metabólitos de fungos do gênero *Fusarium, Myrothecium, Trichoderma, Trichothecium, Cephalosporium, Verticimonosporium* e *Stachybotrys*, freqüentemente isolados de cereais e do solo (Ueno 1983). Sugeriu-se, que, apesar da potente ação fitopatogênica dos tricotecenos macrocíclicos, esses seriam absorvidos pelas 2 espécies de *Baccharis* após sua produção por fungos no solo (Jarvis et al. 1981, Busam & Habermehl 1983).

Não há estudos relacionados com a toxidez de *B. coridifolia*, nem de *B. megapotamica* em caprinos. Sabe-se, por outro lado, que não se pode simplesmente transferir os dados obtidos em uma para outra espécie animal, sem o risco de se cometer graves erros.

O presente estudo experimental teve por finalidade principal verificar a susceptibilidade dos caprinos a *B. megapotamica* var. *weirii*, determinar a dose letal, estabelecer os quadros clínico, anátomo e histopatológico e avaliar possíveis modificações no fluido ruminal dos animais intoxicados, objetivando oferecer subsídios seguros para o diagnóstico da intoxicação espontânea por esta planta. Uma segunda finalidade foi verificar se os caprinos podem servir como animais experimentais na realização de outros estudos sobre a ação tóxica da planta ou seus princípios tóxicos, visto serem ruminantes de porte menor que os bovinos e, por isso, menos dispendiosos.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizaram-se experimentos com *Baccharis megapotamica* var. *weirii*, planta subarbustiva da família Compositae (Fig. 1), em um total de 11 caprinos clinicamente sadios, mestiços, de ambos os sexos, com idade entre 12 e 36 meses, pesando entre 18 e 28 kg. Durante o ensaio, os animais foram mantidos individualmente em baias de alvenaria e alimentados com capim; tinham água à vontade. O apetite dos animais era avaliado oferecendo-se a eles ração concentrada. O estudo foi executado no Setor de Anatomia Patológica (SAP) do Convênio Projeto Saúde Animal da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) no município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro.

As partes aéreas da planta adulta (sem inflorescências) foram coletadas no município de Lages, SC, na localidade de Passo de Souza, em 10 de julho de 1991. Em seguida à coleta, a planta foi acondicionada em câmara fria entre 4 e 6°C até seu emprego. A administração foi feita manualmente por via oral em doses únicas de 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0 e 6,0 g/kg.

Exames clínicos foram realizados 4 vezes ao dia a partir da administração da planta, avaliando-se e cronometrando-se os seguintes parâmetros: atitude, postura, grau de hidratação, coloração das mucosas, dipsia, temperatura retal, apetite, motilidade ruminal, peristaltismo intestinal, aspecto das fezes, freqüência e alterações cárdio-respiratórias e comportamentais.



Fig. 1. Baccharis megapotamica *var.* weirii, *planta adulta sem inflorescências. Mun. Lages, Santa Catarina.*

As avaliações do fluido ruminal foram efetuadas antes da administração da planta, após o início do aparecimento dos sintomas e imediatamente após a morte. O material de estudo foi colhido mediante a passagem de uma sonda esofágica, flexível e com aproximadamente 2,0 cm de diâmetro e comprimento de 1,5 metros. A boca dos caprinos foi mantida aberta com a utilização de um guia-sonda, para que os animais não dilacerassem a sonda. Na sonda foi adaptada uma ponta fixa, cilíndrica, de latão, com 10 cm de comprimento e com pequenas aberturas ao seu redor, sendo coberta por um componente externo mais largo, o qual se acoplou no primeiro com o auxílio de uma rosca. Esse por sua vez também possuía várias aberturas que se desencontravam das internas. A outra ponta da sonda foi inserida em frasco de transfusão de 1 litro com duas entradas, sendo a segunda acoplada a uma bomba de sucção. No fluido ruminal foram avaliados os seguintes parâmetros: cor, aspecto, odor, pH (através de papéis indicadores), fermentação da glicose (em sacarômetro, com leitura em 1 hora), redução de nitrito (3 tubos de ensaio com 10 ml de fluido ruminal, um com 0,2, outro com 0,5 e outro com 0,7 ml de nitrito de potássio a 0,025%, colocados em banho-maria com leituras a cada 5 minutos; se não houvesse redução em 45 minutos, o resultado era considerado negativo), prova de azul de metileno (0,5 ml de azul de metileno a 0,3% dissolvido em 10 ml de suco ruminal) e quantidade de protozoários (Rosenberger 1983).

As necropsias foram realizadas imediatamente após a morte, coletando-se para estudos histopatológicos amostras de coração, pulmão, rim, fígado, pâncreas, das diversas partes do tubo digestivo, adrenal, baço, linfonodos e encéfalo. As amostras foram fixadas em formol a 10%, processadas, incluídas em parafina, cortadas a 5 μ de espessura e coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (HE).

RESULTADOS

Quadro clínico

Os principais dados dos experimentos em caprinos intoxicados com *Baccharis megapotamica* var. *weirii* (Baker) estão expostos nos Quadros 1, 2, 3, 4 e 5.

Todos os animais que receberam 2 a 6 g/kg (Capr. 34, 38, 35, 36, 39, 37, 42, 40, 41) adoeceram e morreram (Quadro 1). Nesses animais, os primeiros sintomas foram observados de 4h a 13h após a administração da planta. A evolução do quadro clínico oscilou de 6h54min a 99h28min. O período compreendido entre a administração da planta e a morte dos animais foi de 10h54min a 112h28min. Os caprinos que receberam 1 g/kg de peso corporal adoeceram levemente.

O quadro clínico observado nos animais que desenvolveram intoxicação aguda por *Baccharis megapotamica* var. *weirii* caracterizou-se inicialmente por apatia, anorexia, dorso arqueado, pêlos arrepiados, sialorréia, movimentos mastigatórios vazios, diminuição de freqüência e intensidade dos movimentos do rúmen, peristaltismo intestinal aumentado, taquicardia, área de auscultação cardíaca aumentada e respiração com hiperfonese e dispnéia inspiratória. A seguir, o animal deitava e levantava com freqüência; quando em decúbito esterno-abdominal apoiava a cabeça no solo; a elasticidade da pele estava diminuída, os animais tinham sialorréia abundante, atonia ruminal, fezes pastoso-líquidas (Fig. 2), extremidades frias, taquicardia intensa com som de galope, arritmia cardíaca, além de emitirem constantes balidos ou gemidos. Na fase final havia declínio da temperatura retal, os animais assumiam postura de decúbito esterno-abdominal com auto-auscultação e finalmente o decúbito lateral. A

Quadro 1. *Experimentos em caprinos com* Baccharis megapotamica *var.* weirii

Capr. nº	Peso kg	Data da administração	Dose g/kg	Início dos sintomas após começo da administração	Evolução	Morte após começo da administração	Desfecho
34	27,5	14.7.91	6	7h	9h	16h	Morreu
38	20	18.7.91	5	4h	6h54min	10h54min	Morreu
35	20	14.7.91	4	8h	25h51min	33h51min	Morreu
36	20,5	15.7.91	4	12h	64h21min	76h21min	Morreu
39	21	18.7.91	4	4h	18h21min	22h21min	Morreu
37	24	15.7.91	3	13h	99h28min	112h28min	Morreu
42	22,5	20.7.91	3	10h	31h15min	41h15min	Morreu
40	23	20.7.91	2	4h	31h30min	35h30min	Morreu
41	18	20.7.91	2	11h	33h	44h	Morreu
43	20	21.7.91	1	19h	39h	–	Adoeceu levemente
44	21	21.7.91	1	19h	39h	–	Adoeceu levemente

Quadro 2. *Avaliação do fluido ruminal de caprinos intoxicados por* Baccharis megapotamica *var.* weirii

Provas	Caprinos																															
	34 6g/kg		38 5g/kg		35 4g/kg		36 4g/kg			39 4g/kg			37 3g/kg			42 3g/kg			40 2g/kg			41 2g/kg			43 1g/kg			44 1g/kg		
	A[a]	M	A	M	A	M	A	S	M	A	S	M	A	S	M	A	S	M	A	S	M	A	S	M	A	R	A	R	A	R
Viscosidade	Vi+	Aq	Vi++	Vi+	Vi+	Aq	Vi+	Vi++	Vi++	Vi+	Vi++	Vi++	Vi+	Aq	Aq	Vi+	Vi++	Aq	Vi+	Aq	Aq	Vi+	Aq	Vi+	Vi+	Vi++	Vi+	Vi+	Vi+	Vi+	Vi++	Vi++
Cor	C	C	Ap	Ap	C	C	Ap	Ap	Ap	Vo	Vo	Vo	C	C	Ap	Vo	Ap	Ap	Vo	Ap	Ap	Vo	Ap	Ap	Ap	Cc	Ap	Cc	Ap	Cc	Ap	Cc
Odor	Ar	Ac+	Ac+	Ar	Ac+	Ac+	Ac+	Ac+	Ac+	Ar	Ac+	Ac+	Ac+	Ar	Ac+	Ar	Ac+	Ac+	Ar	Ac+	Ac+	Ar	Ac+	Ac+	Ac+	Ar	Ar	Ar	Ar	Ar	Ar	Ar
Protozoários (% vivos)	100	0	100	10	100	0	100	0	0	100	0	0	100	10	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	100	100	100	100	100	100	100
pH	6,3	6,0	6,6	5,3	6,3	5,7	6,8	5,7	5,7	6,9	5,3	5,3	6,8	5,7	5,3	6,4	6,0	6,0	6,7	6,0	6,0	6,7	6,0	6,0	6,9	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4
Redução do azul de metileno (min.)	2	20	3	4	2	13	8	18	18	8	16	25	3	11	25	5	6	6	4	6	6	3	6	8	4	4	4	4	4	4	4	4
Redução de nitrito (min.)	10.10. 15	10.N. N	5.10. 10	5.30. N	10.10. 15	20.30. N	5.15. 20	5.30. N	25.N. N	10.20. 25	N.N. N	5.5. 10	10.15. 15	35.40. N		20.25. 45	20.35. N	20.35. N	15.25. 25	25.30. N	20.45. N	5.20. 25	20.35. N	20.25. 30	10.10. 15	25.30. 35	5.20. 20	5.15. 25				
Fermentação da glicose (ml)	0,8	0,4	1	0,2	0,6	0,3	0,5	0	0	0,3	0,0	1,5	0,2	0		0,4	0,4	0,2	0,6	0,2	0,2	0,7	0,2	0,2	0,7	0,5	1,0	0,5				

[a] A = antes da ingestão da planta, S = após os primeiros sintomas, M = no animal morto, R = após recuperação;
Vi = viscoso, Aq = aquoso, + = levemente, + + = moderadamente;
C = castanho, Ap = amarelo palha, Vo = verde oliva, Cc = castanho claro;
Ar = aromático, Ac = ácido, + = levemente;
N = negativo.

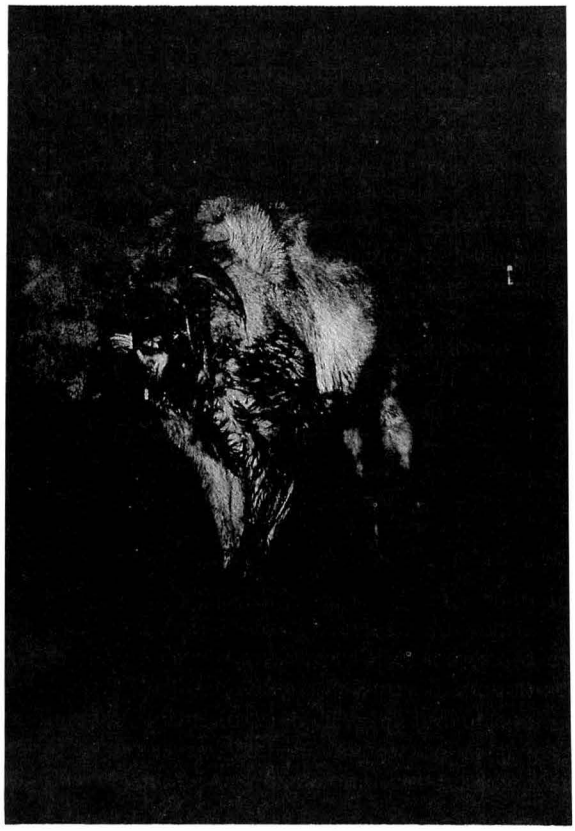


Fig. 2. *Caprino com sinais externos de diarréia. Intoxicação experimental por* B. megapotamica *var.* weirii. *(Capr. 39)*

emissão de gemidos e balidos continuava, ocorrendo ainda movimentos de pedalagem, extremidades frias, sialorréia profusa e retração dos globos oculares. Precedendo o óbito, todos os animais apresentaram redução da freqüência respiratória que era ruidosa na expiração, além da ausência de reflexos e da sensibilidade cutânea e corneal, caracterizando um quadro comatoso de curta duração.

Avaliação do fluido ruminal

As alterações encontradas no fluido ruminal, evidenciaram uma diminuição na atividade da microbiota, caracterizada por aumento no tempo da redução do nitrito e azul de metileno, queda na produção de gás resultante da fermentação da glicose, mudança no odor e da viscosidade e morte dos protozoários.

Nos caprinos intoxicados por *B. megapotamica* var. *weirii* foram observados, quando o pH chegou a 6, morte de todos os protozoários, alteração no odor e diminuição no metabolismo dos diferentes grupos de bactérias. Essa queda chegou ao pH 5,3.

Os resultados individuais das diversas provas do fluido ruminal constam no Quadro 2.

Achados de necropsia

Os achados de necrópsia mais importantes ocorreram no tubo digestivo, principalmente no abomaso e em segmentos do intestino delgado (Quadro 3).

Quadro 3. *Achados de necropsia de caprinos experimentalmente intoxicados por* Baccharis megapotamica *var.* weirii

Capr. nº (SAP)[a]	Coração	Fígado		Rúmen			Retículo		Abomaso			Duodeno	Jejuno		Íleo		Ceco		Cólon Proximal	
	Hemorragias equimóticas	Congestão	Lobulação perceptível	Saco dorsal		Saco ventral	Sulco longitudinal	Congestão da mucosa	Congestão	Edema da parede	Congestão da mucosa	Edema da parede	Congestão	Congestão da mucosa		Edema da parede	Congestão da mucosa	Edema da parede	Congestão da mucosa	Edema da parede
				Congestão	Edema	Congestão	Edema				Base	Dobras			Em segmento	Na parte final						
34 (25298-304)	+[b, e]	+(+)	–	–	–	+	–	–	–	–	+	++	–	(+)	–	++	+++	+	+	–	+(+)	–	+	–
38 (25326-332)	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	+(+)	+(+)	+(+)	++	–	++	+(+)	–	–	–	–	–	+	–
35 (25305-311)	–	–	–	+	+	–	–	+	–	–	+	++	+(+)	–	–	+	+++	++(+)[c]	–	++(≠)	+(+)	–	+	–
36 (25341-347)	–	+	–	+	–	–	–	–	+	–	+	+	+	+	–	–	+(+)	–	–	–	+(+)	–	+	–
39 (25319-385)	++[d]	++	+	+	–	+	–	–	+	–	++(+)	++(+)	++	++	–	++	+	–	++	–	+	–	++	++
37 (25312-318)	+[d]	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	++	+	+	+(+)	–	+	+	+	–	+	+	+	+
42 (25334-340)	+[d]	+	–	+	+	–	+	–	+	+	+(+)	++	+	+	+	+	+	+	–	–	++	+	++	–
40 (25349-355)	+[d]	–	+	+	+	–	+	–	+	++	+++	+	++	+	+	+	+	+	–	–	+	–	+	–
41 (25356-362)	+[d]	+	–	–	+	–	+	–	–	+	+++	++	+++	+++	–	–	+++	–	–	–	+(+)	+	+	+

[a] Números de registro do material para exame histopatológico, Setor de Anatomia Patológica do Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ;
[b] Endocárdio do ventrículo esquerdo;
[c] Na parte final, nas outras leve;
[d] Epicárdio da aurícula esquerda;
[e] Lesão acentuada, ++ moderada, + leve, (+) discreta.

No rúmen de 6 animais havia leve, porém nítida congestão difusa da mucosa do saco dorsal cranial (átrio) (Fig. 3) (Capr. 38, 35, 36, 39, 42, 40) e em 4 animais leve edema da parede (Capr. 35, 42, 40, 41). No saco ventral essas lesões eram menos freqüentes. No sulco longitudinal houve edema de parede em 2 casos (Capr. 35, 41). No retículo observou-se leve congestão difusa da mucosa em 4 casos (Capr. 36, 39, 42, 40) e leve até moderado edema em 3 casos (Capr. 42, 40, 41). Em todos os casos o abomaso apresentava leve até acentuada congestão difusa da mucosa, sendo um pouco mais acentuada nas dobras do abomaso de 3 animais (Capr. 34, 35, 40); na mucosa das dobras evidenciou-se edema leve até moderado em 8 casos (Capr. 38, 35, 36, 39, 37, 42, 40, 41). No duodeno, congestão difusa da mucosa variando de discreta até acentuada foi observada em 8 casos (Capr. 34, 38, 36, 39, 37, 42, 40, 41), e edema da parede, de leve até leve/moderado, em 4 casos (Capr. 37, 42, 40, 41). No jejuno de todos os animais havia leve até acentuada congestão da mucosa, comprometendo segmentos em extensões variáveis, sendo mais acentuada na parte final (último metro) em 5 casos (Capr. 34, 38, 35, 36, 41); leve edema da parede foi observado em 4 animais (Capr. 34, 37, 42, 40). No caprino 35, o edema ocorreu no último metro do jejuno e de forma moderada/acentuada acompanhando as áreas de congestão. No íleo, a mucosa apresentava-se de leve até moderadamente congesta, em 3 casos (Capr. 34, 39, 37); em um animal (Capr. 35), adicionalmente, a parede estava bastante edemaciada. Em alguns casos (Capr. 34, 41) havia pseudo-membranas no intestino delgado.

No ceco, havia leve até moderada congestão na mucosa em 8 animais (Capr. 34, 35, 36, 39, 37, 42, 40, 41) e edema da parede em 3 casos (Capr. 37, 42, 41). Em 2 casos (Capr. 36, 41) havia sangue no seu conteúdo. No cólon proximal de todos os caprinos observaram-se leve até moderada congestão da mucosa e leve até moderado edema da parede em 3 casos (Capr. 39, 37, 41).

Ainda foram verificadas, no coração, equimoses subepicárdicas na aurícula esquerda (Capr. 39, 37, 42, 40, 41) e equimoses subendocárdicas (Capr. 34). No fígado havia leve até moderada congestão em 5 casos (Capr. 34, 36, 39, 42, 41); em 3 animais a lobulação era mais perceptível na superfície de corte (Capr. 38, 39, 40).

Alterações histológicas

As principais alterações histológicas foram observadas no tubo digestivo, fígado e tecido linfóide (Quadros 4 e 5).

Nos *pré-estômagos* (Quadro 4) a principal alteração microscópica presente foi necrose coagulativa cuja intensidade e distribuição eram muito variáveis de campo para campo e de área para área. No rúmen, a necrose ocorreu em 7 casos (Capr. 35, 36, 39, 37, 42, 40, 41), no retículo foi verificada em 4 (Capr. 35, 42, 40, 41) e no omaso também em 4 casos (Capr. 39, 42, 40, 41). Em algumas áreas de mucosa, principalmente no rúmen, a necrose ocorria com afastamento das células epiteliais (dissociação celular) (Fig. 4); essas células mostravam variáveis graus de eosnofilia ou tumefação do citoplasma, acompanhadas de picnose e cariorrexia. Nos casos em que a lesão era mais acentuada, tanto o estrato granuloso como o espinhoso foram acometidos em focos que variavam de

Quadro 4. *Alterações microscópicas dos pré-estomagos, abomaso, fígado e tecido linfóide de caprinos experimentalmente intoxicados com* Baccharis megapotamica *var.* weirii

Capr. nº (SAP)[a]	Pré-estomagos						Abomaso			Fígado		Tecido linfóide com necrose			
	Rúmen		Retículo		Omaso		Congestão	Edema	Hemor.	Necrose	Necrose	Tumefação	Baço	L. mes.	L. ext.	Pl. Peyer
	Tumef.	Necrose	Tumef.	Necrose	Tumef.	Necrose										
34 (25298-304)	+(+)	–	+	–	–	–	+(+)	+	–	+	+(+)	+	–	–	(+)	–
38 (25326-332)	+(+)	–	++	–	+(+)	–	+(+)	–	–	–	++	+	(+)	(+)	nc(b)	–
35 (25305-311)	+	+(+)	+(+)	(+)	++(+)	–	(+)	–	–	+	–	+	–	–	–	–
36 (25341-347)	+(+)	(+)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+(+)	–	–	–	–
39 (25319-385)	++(+)	(+)	++	–	++	(+)	(+)	(+)	–	+(+)	–	+	+	–	–	–
37 (25312-318)	–	+(+)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	(+)	–	–	–	–
42 (25334-340)	++	++(+)	–	+++	++	+(+)	–	–	–	–	–	(+)	–	–	–	–
40 (25349-355)	++(+)	++(+)	(+)+	+(+)	++	+	+++	–	+	+	–	++	(+)	+	nc	–
41 (25356-362)	++(+)	(+)	++	(+)	++(+)	(+)	+++	+++	–	++(+)	–	+(+)	–	–	–	–

[a] Números de registro do material para exame histopatológico, Setor de Anatomia Patológica; [b] nc = não coletado; c + + + Lesão acentuada, + + moderada, + leve, (+) discreta.

Quadro 5. *Alterações microscópicas do intestino delgado (jejuno e fleo) de caprinos experimentalmente intoxicados por* Baccharis megapotamica *var.* weirii

Capr. nº (SAP)[a]	Jejuno							Íleo						
	Mucosa			Submucosa				Mucosa			Submucosa			
	Congestão	Hemor.	Necrose	Infilt. por neutrófilos	Congestão	Edema	Infilt. por neutrófilos	Dilat. e trombose dos vasos linf.	Congestão	Hemor.	Necrose	Infilt. por neutrófilos	Congestão	Edema	Infilt. por neutrófilos	Dilat. e trombose dos vasos
34 (25298-304)	+++[c]	+(+)	+++	–	+++	++	–	+++	+(+)	(+)	(+)	–	–	–	–	–
38 (25326-332)	–	+	+++	–	+++	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
35 (25305-311)	+++	+++	+++	+	++	+++	+(+)	++(+)	+++	++	+++	+(+)	+(+)	++(+)	+(+)	+++
36 (25341-347)	(+)	–	–	–	–	–	–	++	–	–	–	–	–	–	–	–
39 (25319-385)	+++	+	+++	+	+	++	+(+)	++	+++	+(+)	++(+)	+	+	++	+	++
37 (25312-318)	–	–	–	–	–	+	–	+[b]	–	–	–	–	–	–	–	–
42 (25334-340)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
40 (25349-355)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
41 (25356-362)	+++	+(+)	+++	–	(+)	+(+)	(+)	++	–	–	–	–	–	–	–	–

[a] Números de registro do material para exame histopatológico, Setor de Anatomia Patológica;
[b] Dilatação dos linfáticos sem trombose nas vilosidades;
[c] +++ Lesão acentuada, ++ moderada, + leve, (+) discreta.

extensão (Capr. 39, 40). Naqueles casos em que a lesão era de menor intensidade, somente as células do estrato granuloso, em pequenos focos, foram atingidas (rúmen, Capr. 36, 41; omaso, Capr. 42). Havia também, com intensidade variável, infiltração por polimorfonucleares e invasão bacteriana nos diferentes planos do epitélio. No rúmen do caprino nº 40, foram vistas, com freqüência, fendas paralelas entre os planos superiores do epitélio afetado. Em outras áreas do epitélio dos pré-estômagos, por vezes a necrose coagulativa ocorria sem dissociação das células epiteliais atingindo todos os estratos, havendo despreendimento e perda da porção necrosada que apresentava invasão bacteriana em grau variável e subseqüente desnudamento do cório (rúmen, Capr. 40, 42; retículo, Capr. 42). Em outros locais somente os estratos superiores apresentavam-se necrosados, com presença de restos nucleares e/ou infiltração por polimorfonucleares (rúmen, Capr. 37), além de invasão bacteriana (rúmen, Capr. 42; omaso, Capr. 42, 40, 41). Em um caso (Capr. 39) verificou-se necrose coagulativa com cariorrexia de somente células isoladas ou em pequenos grupos, nos estratos granuloso e espinhoso do rúmen, retículo e omaso. Tumefação do estrato granuloso esteve presente na maioria dos casos, em intensidade que variou de leve até moderada/acentuada, com excessão do caprino 37. Freqüentemente essas células tumefeitas mostravam núcleos vesiculosos com cromatina marginada. Às vezes havia lise dessas células, principalmente nas áreas em que havia necrose acompanhada de dissociação celular. No cório, as alterações se restringiam principalmente às áreas em que as lesões epiteliais foram mais acentuadas (rúmen, Capr. 42, 40; retículo, Capr. 42). Verificaram-se hialinização e fragmentação das fibras colágenas, edema, dilatação de linfáticos com ocasional trombose e discreta infiltração por polimorfonucleares.

No *abomaso* ocorreu necrose coagulativa da mucosa que variou em intensidade de leve até moderada/acentuada. A necrose atingia focalmente a parte superior da mucosa (Capr. 34, 35, 39, 40) ou a porção profunda e era acompanhada por leves hemorragias (Capr. 40). No Caprino 41, a necrose afetava toda a mucosa, bem como parte da camada muscular da mucosa; adicionalmente havia infiltração por leucócitos, parte em picnose e cariorrexia. Na submucosa verificaram-se edema e congestão acentuados, infiltração por leucócitos bem como raros trombos nos linfáticos. A camada muscular apresentava acentuado edema entre as fibras. Em 3 casos (Capr. 34, 39 e 40), foi visto edema na submucosa, atingindo somente a parte superior das dobras.

No *intestino delgado* (Quadro 5), as lesões observadas caracterizaram-se, na maioria dos casos, por acentuada necrose da mucosa do jejuno e íleo. No *duodeno*, somente foi verificada discreta congestão em um caso (Capr. 40). No *jejuno*, constatou-se necrose coagulativa da mucosa (Fig. 5) em 5 casos (Capr. 34, 38, 35, 39, 41). Em 2 casos, a necrose era acompanhada por muitas imagens de cariorrexia e picnose das células epiteliais das



Fig. 3. *Congestão difusa da mucosa do rúmen na intoxicação experimental por* B. megapotamica *var.* weirii. *(Capr. 42)*

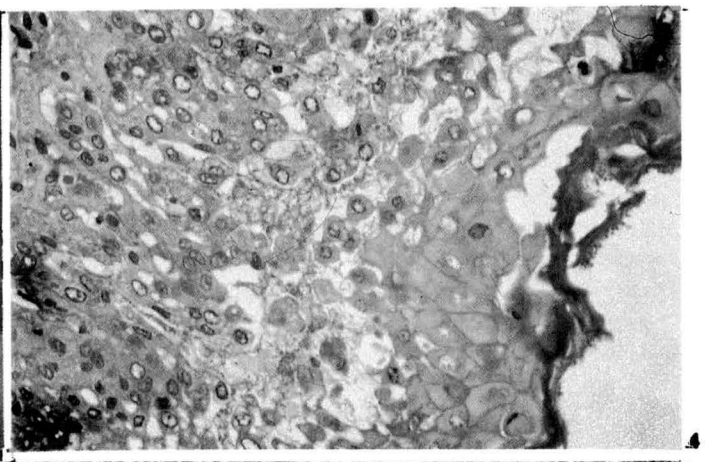


Fig. 4. *Necrose com dissociação das células epiteliais da mucosa do rúmen na intoxicação experimental por* B. megapotamica *var.* weirii *(Capr. 40, SAP 23349). HE, obj. 25.*

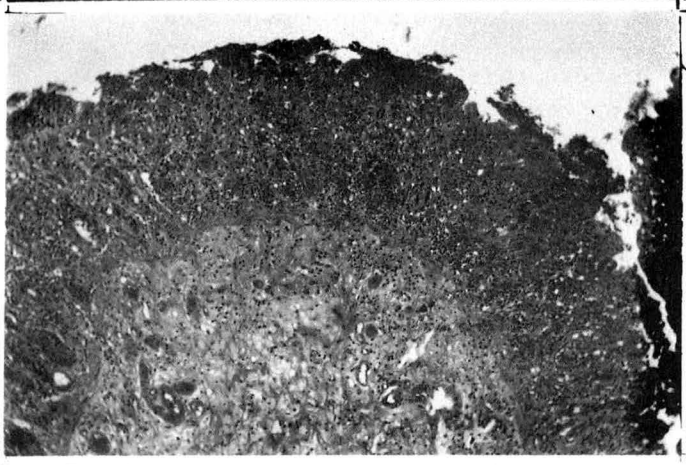


Fig. 5. *Necrose coagulativa do jejuno acompanhada de hemorragias na intoxicação experimental por* B. megapotamica *var.* weirii. *(Capr. 35, SAP 25309). HE, obj. 10.*

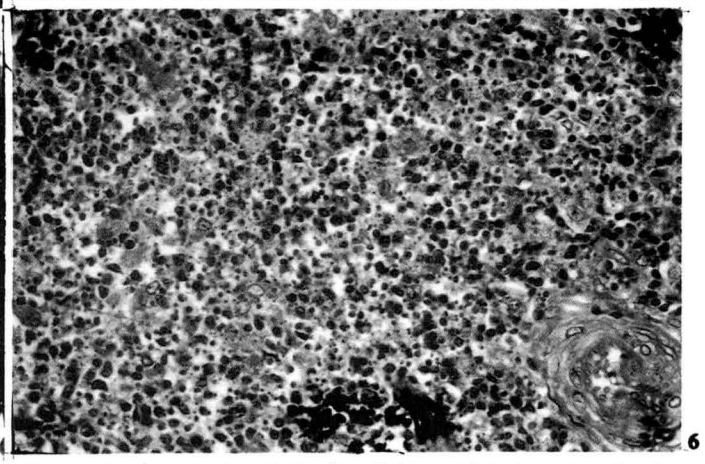


Fig. 6. *Necrose com picnose e cariorrexia das células linfocitárias de centros germinativos de folículo do baço na intoxicação experimental por* B. megapotamica *var.* weirii *(Capr. 35, SAP 25329). HE, obj. 40.*

criptas (Capr. 38, 39); em dois outros, observou-se simplesmente necrose coagulativa sem imagens de cariorrexia e picnose, acompanhada de hemorragias em alguns focos (Capr. 34, 41). Em um único caso (Capr. 35) ocorreu necrose com desaparecimento da estrutura epitelial e conjuntiva que foi substituída por sangue. No entanto podiam ser vistas muitas imagens de cariorrexia e picnose em células de origem epitelial, na região das criptas, e de origem leucocitária na região das vilosidades e criptas, ou cuja origem não pode ser determinada. Ainda foi verificada, nesse caso na parte superior da mucosa, formando uma lâmina, acúmulo de células em cariorrexia e picnose (provavelmente polimorfonucleares), fibrina e bactérias. Havia, também por toda mucosa (Capr. 35, 39), leve até leve/moderada infiltração por poliformonucleares. Na submucosa, principalmente das áreas lesadas da mucosa, havia leve até acentuado edema (Capr. 34, 35, 39, 37, 41). Havia de discreta até leve/moderada infiltração por polimorfonucleares, alguns deles mostrando cariorrexia (Capr. 35, 39, 41). Verificaram-se também marcada dilatação dos vasos linfáticos e acentuada presença de trombos de fibrina com polimorfonucleares (Capr. 34, 35, 36, 39, 37, 41) e discreta até acentuada congestão (Capr. 34, 38, 35, 39, 41). No *íleo* do caprino 39 verificou-se moderada/acentuada necrose com cariorrexia e picnose das células epiteliais das criptas. No caprino 35 a necrose era similar à observada no jejuno do mesmo animal; na parte superior da mucosa foi verificado, ainda, acúmulo acentuado de polimorfonucleares, formando uma lâmina, onde grande parte deles mostrava figuras de picnose e cariorrexia. No caprino 34 observou-se necrose com cariorrexia e picnose somente da parte superior das vilosidades, de forma discreta. Ainda foram vistas congestão e hemorragia na própria da mucosa em 3 casos (Capr. 34, 35, 39). Na submucosa, principalmente das áreas lesadas da mucosa, observou-se edema que variou de moderado até moderado/acentuado (Capr. 35, 39). Havia de leve até leve/moderada infiltração por polimorfonucleares, alguns deles mostrando cariorrexia (Capr. 35, 39). Verificaram-se também marcada dilatação dos vasos linfáticos e acentuada presença de trombos de fibrina com polimorfonucleares (Capr. 35, 39) e leve até leve/moderada congestão (Capr. 35, 39). Na serosa, foi visto edema de forma difusa ou focal (Capr. 35) ou somente focal (Capr. 39).

No *fígado* (Quadro 4), ocorreram necrose coagulativa com picnose, cariorrexia e lise dos hepatócitos em dois casos (Capr. 34, 38). A lesão afetava principalmente a zona intermediária e, em menor proporção, a zona central dos lóbulos. Havia dilatação dos sinusóides com congestão que variou de moderada até acentuada e extravasamento de hemácias nas áreas lesadas e desaparecimento de hepatócitos com presença de corpúsculos de choque (Capr. 34, 38). Em todos os outros casos, havia de discreta até leve/moderada tumefação dos hepatóctos, geralmente de forma difusa e em alguns casos de discreta até leve congestão (Capr. 36, 39, 37, 42, 40, 41).

No *tecido linfóide* (Quadro 4) ocorreu necrose com picnose e cariorrexia das células linfocitárias, afetando somente os centros germinativos dos folículos, os quais eram lesados em número variável. No *baço*, necrose (Fig. 6) de discreta até leve esteve presente em 3 casos (Capr. 38, 39, 40). Nos *linfonodos mesentéricos* necrose de discreta até leve foi vista em dois animais (Capr. 38, 40). Nos *linfonodos externos*, necrose discreta foi observada somente no Caprino 34.

No *pulmão* foram observados leve congestão, focos de hemorragia intralveolar e leve edema (Capr. 35).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Nos experimentos efetuados com as partes áreas frescas de *B. megapotamica* var. *weirii* verificou-se que a administração de doses únicas produziu um quadro tóxico agudo nos caprinos que ingeriram 2, 3, 4, 5 e 6 g/kg, com predominância de manifestações clínico-patológicas sobre o trato digestivo.

O início dos sintomas da intoxicação após o começo da administração da planta e a evolução da intoxicação nos caprinos foram bastante semelhantes aos observados na intoxicação de ovinos com ambas as variedades de *B. megapotamica* (Armién et al. 1993), porém esses períodos são um pouco maiores que os verificados em bovinos intoxicados pelas mesmas variedades (Tokarnia et al. 1992a). Também ocorreu variação de sensibilidade de acordo com a espécie; enquanto que em bovinos, a dose letal foi de 1 g/kg, para caprinos foi de 2 g/kg e para ovinos esta situou-se entre 2 e 3 g/kg. Os sintomas clínicos apresentados pelos caprinos intoxicados por *B. megapotamica* var. *weirii* predominaram sobre o sistema digestivo e foram semelhantes aos encontrados em bovinos (Tokarnia et al. 1992a) e em ovinos (Armién et al. 1993). Porém, nos caprinos os achados referentes aos intestinos foram mais graves, tendo os animais sempre buscado posturas antiálgicas no sentido de aliviar o desconforto causado pela planta nessa parte do trato digestivo.

Os quadros anátomo e histopatológico no presente experimento relacionaram-se predominantemente ao trato intestinal, com leve envolvimento dos pré-estômagos e abomaso, ao contrário do que foi observado em bovinos e ovinos intoxicados com *B. megapotamica* var. *weirii*, nos quais preponderaram tais alterações.

Os achados histopatológicos de necrose do epitélio dos pré-estômagos nos caprinos foram semelhantes aos verificados em bovinos e ovinos intoxicados por *B. megapotamica* var. *weirii*; nos caprinos adicionalmente havia tumefação das células do estrato granuloso. Enquanto que nos intestinos de bovinos e ovinos intoxicados pela mesma planta não foram descritas lesões histológicas, em caprinos evidenciaram-se marcadas lesões na mucosa e submucosa do jejuno e íleo, caracterizadas por necrose, congestão, hemorragias e infiltração por neutrófilos. Nos animais que receberam doses mais elevadas (4, 5 e 6 g/kg) e que tiveram evolução mais curta, essas lesões eram mais pronunciadas; entretanto, o caprino 41, que recebeu 2 g/kg, apresentou lesões tão marcantes quanto aqueles que receberam as doses maiores. Por outro lado, Tokarnia et al. (1992b) observaram que coelhos intoxicados pela var. *weirii* também apresentaram marcadas lesões no intestino delgado como congestão e hemorragias, no ceco hemorragias e necrose da mucosa e edema na submucosa.

No que diz respeito ao fígado, os achados microscópicos dos caprinos foram semelhantes aos encontrados em bovinos intoxicados por *B. megapotamica* var. *weirii*; porém, necrose hepática já foi observada em caprinos que receberam de 2,5 a 3 vezes a dose letal, enquanto essa lesão só foi vista em um bovino que recebeu 10 vezes a dose letal. Em ovinos e coelhos tumefação celular constituiu o principal achado histológico do fígado, entretanto um ovino que recebeu 15 g/kg de *B. megapotamica* var. *megapotamica* também apresentou leve necrose dos hepatócitos.

Com relação aos bacarinóides (tricotecenos macrocíclicos), substâncias isoladas por Kupchan et al. (1977) de tecidos de *B. megapotamica*, Armién et al. (1993), sustentados em dados obtidos da literatura, responsabilizaram essas substâncias como capazes de provocar as lesões em ovinos experimentalmente intoxicados com *B. megapotamica*. Segundo esses autores a escassez de dados na literatura sobre o efeito tóxico específico dessas substâncias nas diversas espécies animais, em dosagens que provoquem o quadro agudo, impede a comparação com o efeito tóxico de *B. megapotamica*.

No presente estudo a natureza dos achados histopatológicos verificados em caprinos corroboram as afirmações de Busby & Wogan (1981) segundo os quais tricotecenos, de maneira geral, provocam, nas diferentes espécies estudadas, necrose com cariorrexia e picnose em tecidos com elevada atividade mitótica como os órgãos linfóides e o trato gastrintestinal, caracterizando, desta maneira, seu efeito radiomimético.

Nos caprinos intoxicados por *B. megapotamica* var. *weirii* o efeito radiomimético fêz-se sentir sobre o epitélio do tubo digestivo e no tecido linfóide do baço e dos linfonodos internos e externos.

As alterações verificadas nos intestinos podem ser vistas como responsáveis pela diarréia ocorrida na maioria dos animais e suas conseqüências, ou seja desidrata-

ção e perda de eletrólitos, mecanismo bastante conhecido (Blood & Radostits 1991).

Já com relação às alterações do fluido ruminal (acidose) a interpretação é mais difícil, pois a ausência de literatura sobre a avaliação do fluido ruminal de animais intoxicados por plantas que contém tricotecenos não permite uma comparação com os dados aqui obtidos.

Entretanto os mecanismos que causam acidose pela ingestão excessiva de carboidratos não estruturais são conhecidos. Isso ocorre devido a uma fermentação que dificulta a adaptação da microbiota do rúmen, levando a um aumento relativo dos ácidos graxos voláteis com conseqüente queda no pH do fluido ruminal. Quando o pH chega a 6, o número de bactérias gram-negativas e protozoários diminui, enquanto que o de cocos gram-positivos, especialmente *Streptococcus bovis*, aumenta. A produção de ácido lático por essas bactérias determina a queda do pH até 4,5, ambiente favorável para multiplicação de bastonetes gram-positivos (*Lactobacilli*) que produzem mais ácido lático, baixando o pH a 4. Outros fatores ligados ao hospedeiro e a microflora podem estar envolvidos no desencadeamento da acidose ruminal (Blood & Radostits 1991, Huntington 1989, Dirksen 1969, 1981).

A acidose ruminal e as alterações ocorridas no fluido ruminal na intoxicação por *B. megapotamica* var. *weirii* nos caprinos não podem ser interpretadas como produzidas pela ingestão excessiva de carboidratos rapidamente fermentescíveis, uma vez que na intoxicação tal fato não ocorreu.

Baseados em todos esses dados, podemos supor que as alterações ocorridas no fluido ruminal de animais intoxicados por *B. megapotamica* var. *weirii* possivelmente estejam relacionadas com: 1) as alterações ocorridas na mucosa do órgão (necrose do epitélio) acarretando uma redução da capacidade absorptiva dos ácidos graxos voláteis pela mucosa ruminal; 2) a redução da absorção dos ácidos graxos voláteis pela mucosa ruminal devido a ausência do processo de lixiviação causada pela redução dos movimentos ruminais; 3) diminuição do tamponamento no fluido ruminal devido a redução do fluido salivar decorrente da parada dos movimentos ruminais; 4) redução do efeito alcalinizante resultante da morte das bactérias ureolíticas, que vivem aderidas ao epetélio do rúmen e retículo e 5) redução do processo de engulfamento bacteriano, especialmente *Streptococcus bovis* devido a morte dos protozoários ruminais.

Segundo Blood & Radostits (1991) os sintomas como desidratação, extremidades frias, alterações cárdio-respiratórias, entre outros, desenvolvidos pelos animais intoxicados, podem decorrer do desequilíbrio eletrolítico provocado pela diarréia e pela acidose ruminal. Possivelmente essas alterações tenham contribuído em muito no agravamento do quadro clínico, porém não podemos afirmar que, por si só, sejam responsáveis pela morte dos animais, uma vez que a ação dos tricotecenos é conhecida como altamente tóxica.

REFERÊNCIAS

Armién A.G., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1993. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 13(1/2):5-20.

Barroso G.M. 1976. Compositae, subtribo Baccharidinae Hoffmann: estudo das espécies ocorrentes no Brasil. Rodriguesia, Rio de J., 28(40). Separata, 273p.

Blood D.C. & Radostits O.M. 1991. Clínica Veterinária. 7ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1263p.

Busam L. & Habermehl G.G. 1983. Accumulation of mycotoxins by *Baccharis coridifolia*: A reason for livestock poisoning. Naturwissenschaften 69:392.

Busby W.F. & Wogan G.N. 1981. Trichothecenes, p. 29-45. In: Shank R.C. (ed.) Mycotoxins and N-nitroso Compounds: Environmental Risks. Vol. II. CRC Press, Florida.

Dirksen G. 1969. Acidosis, p. 612-629. In: Phillipson A.T. (ed.) Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant. Proc. 3rd Int. Symposium, Cambridge. Oriel Press, Newcastle upon Tyne, England.

Dirksen G. 1981. Indigestiones en el Bovino. Schnetztor, Konstanz. 76 p.

Döbereiner J., Rezende A.M.L. & Tokarnia C.H. 1976. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* em coelhos. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 11:27-35.

Gava A. 1992. Comunicação pessoal. (Universidade de Desenvolvimento do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, SC)

Huntington G.B. 1989. Acidosis, p. 474-480. In: Church D.C. (ed.) The Ruminal Animal. Digestive Physiology and Nutrition. Prentice Hall, Englewood Cliffs.

Jarvis B.B., Midiwo J.O., Tuthii D. & Bean G.A. 1981. Interaction between the antibiotic trichothecenes and the higher plant *Baccharis megapotamica*. Science 214:460-462.

Kupchan S.M., Streelman P.R., Jarvis B.B., Dailey R.G. & Sneden A.T. 1977. Isolation of potent new antileukemic trichothecenes from *Baccharis megapotamica*. J. Org. Chem. 42(26):4221-4225.

Rosenberger J. 1983. Exame Clínico dos Bovinos. 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 429 p.

Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1975. Intoxicação experimental em bovinos por "mio-mio", *Baccharis coridifolia*. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 10:79-97.

Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1976. Intoxicação experimental em ovinos por "mio-mio", *Baccharis coridifolia*. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 11:19-26.

Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Gava A. & Barros C.S.L. 1992a. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) em bovinos. Pesq. Vet. Bras. 12(1/2):19-31.

Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Gava A. & Döbereiner J. 1992b. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* em coelhos. Pesq. Vet. Bras. 12(3/4):49-64.

Ueno Y. 1983. Historical background of trichothene problems, p. 1-6. In: Ueno Y. (ed.) Trichothecenes: Chemical, Biological and Toxicological Aspects. Elsevier, Amsterdam.

ABORTO EM BOVINOS CAUSADO PELA INGESTÃO DE *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae)[1]

LUIZ STOLF[2], ALDO GAVA[2], MARY S. VARASCHIN[3], DALMO S. NEVES[2], ADEMIR J. MONDADORI[2] e LUCIANI S. SCOLARI[4]

ABSTRACT.- Stolf L., Gava A., Varaschin M.S., Neves D.S., Mondadori A.J. & Scolari L.S. 1994. **[Abortion in bovine caused by ingestion of Ateleia glazioviana (Leg. Papilionoideae).]** Aborto em bovinos causado pela ingestão de *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae). *Pesquisa Veterinária Brasileira 14(1):15–18.* Centro de Ciências Agroveterinárias, Av. Luiz de Camões 2090, Lages, Santa Catarina 88520-000, Brazil.

Abortion in cows is very common in western Santa Catarina, Brazil, specially in the counties at the borders of the Uruguai river. According to case histories abortion occurs during any time of gestation; cows at the end of gestation deliver weak calves, which have some difficulties to stand and die some days later. Most of the farmers inform that the problem occurs only in pastures infested by a plant with the common names of "maria-preta", "cinamono-bravo" or "timbó". Experiments with fresh and dried leaves of *Ateleia glazioviana* Baill were made with 8 cows in different stages of gestation. Three cows which received the plant in single or subdivided doses of 35 g/kg aborted from 5 to 16 days after administration. With doses between 22 and 30 g/kg weak calves were delivered. Besides abortion the cows showed apathy, recumbency, vulvar edema, retention of the placenta and endometritis.

Through these results it can be concluded that *A. glazioviana* eaten by cows in doses larger than 22 g/kg can cause abortion and delivery of weak calves without minimal conditions for survival. This suggests that most abortions in cows, kept in fields with *A. glazioviana,* occur due to the toxicity of this plant species.

INDEX TERMS: Abortion, bovine, pathology, poisonous plants, plant poisoning, *Ateleia glazioviana*, Leguminosae Papilionoideae, Santa Catarina, Brazil.

SINOPSE.- Aborto em vacas é freqüente na região Oeste do Estado de Santa Catarina, principalmente nos municípios limítrofes ao Rio Uruguai. Históricos obtidos nesta região, informam que o aborto ocorre em qualquer período gestacional, sendo que nas vacas, em final de gestação, há nascimento de bezerros fracos, com dificuldade de permanecer em pé e óbito alguns dias após. A maioria dos criadores informa que este problema só existe em campos onde há uma planta conhecida popularmente como "maria-preta", "cinamono-bravo" ou "timbó".

Experimentos com folhas verdes e secas de *Ateleia glazioviana* Baill foram realizados com 8 vacas em diferentes fases de gestação. Três vacas que receberam a planta em doses únicas ou fracionadas de 35 g/kg, abortaram entre 5 e 16 dias após a administração. Com doses entre 22 e 30 g/kg, houve o nascimento de terneiros fracos e com pouco apetite. Além do aborto, as vacas manifestaram apatia, andar cambaleante, decúbito esternal freqüente, tumefação vulvar, retenção de placenta e endometrite.

A partir dos resultados obtidos através da experimentação é possível afirmar que *A. glazioviana*, quando ingerida por vacas prenhes em doses iguais ou superiores a 22 g/kg, produz aborto ou nascimento de terneiros fracos, sem condições mínimas de sobrevivência. Desta forma, foi possível confirmar que a maioria dos abortos ocorridos em vacas mantidas em campos infestados por *A. glazioviana*, se deve à ação tóxica desta planta.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Aborto, bovinos, patologia, plantas tóxicas, intoxicação por planta, *Ateleia glazioviana*, Leguminosae Papilionoideae.

INTRODUÇÃO

Grandes perdas econômicas são relatadas por criadores de bovinos na região Oeste do Estado de Santa Catarina, em decorrência do alto índice de abortos de etiologia desconhecida, verificados em vacas em diferentes períodos gestacionais. As evidências epidemiológicas apontam como causa a ingestão de *Ateleia glazioviana* Baill, conhecida popularmente como "maria-preta", "cinamono-bravo", "timbó". Alguns criadores verificaram que os abortos ocorrem principalmente no final do verão e no outono e sempre estão relacionados a períodos de escassez de alimentos, motivo pelo qual os animais ingerem a planta que, em certas propriedades, é a vegetação predo-

1 Aceito para publicação em 10 de novembro de 1993.

2 Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Av. Luiz de Camões 2090, Lages, SC 88520-000.

3 Aluna de graduação do Curso de Medicina Veterinária/CAV-UDESC; bolsista do CNPq.

4 Médica Veterinária da Companhia Integrada para o Desenvolvimento Agrícola do Estado de Santa Catarina (CIDASC), Chapecó, SC.

minante. Outro fato epidemiológico importante é a ocorrência de abortos em algumas propriedades logo após as primeiras geadas. Sob estas condições, as folhas da planta caem e são ingeridas pelos animais.

O índice de aborto é variável, chegando a 45% do total de vacas gestantes. Quando o aborto ocorre nos últimos dias da gestação, os bezerros nascem fracos, permanecendo em decúbito, ou em pé com a cabeça baixa, incapazes de mamar. Há abortos também em ovinos, e em menor escala, em eqüinos e caprinos.

No Brasil, outras plantas são acusadas por criadores como determinantes de aborto em bovinos. Uma delas é *Enterolobium contortisiliquum*. No entanto, Marques et al. (1974) não conseguiram reproduzir aborto em 3 vacas com a administração de 10 g/kg de favas desta planta. Com as favas de outra planta suspeita, *Dimorphandra mollis* Benth., testadas por Santos et al. (1978), também não se conseguiu reproduzir aborto nas doses de 10 e 12 g/kg.

Na Região Sudeste do Brasil, *Tetrapterys* spp. são incriminadas como determinantes de aborto em bovinos, por Borges (1984). Segundo Tokarnia et al. (1989), essas plantas causam lesões cardíacas e hepáticas, tanto na mãe quanto no feto abortado, sugerindo que o princípio tóxico de *Tetrapterys* spp. ultrapassaria a barreira placentária, levando o feto à morte por problemas circulatórios de origem central.

Experimentalmente, extrato aquoso de *A. glazioviana* em ratas interferiu significativamente na reprodução. À necropsia foram encontrados fetos em estado de decomposição e reabsorção (Langeloh et al. 1992). Estes autores também observaram redução na taxa de mortalidade (21%) em ratas tratadas com extrato aquoso de *Tetrapterys multiglandulosa* Adr. Juss. Da mesma forma, obtiveram redução no número médio de filhotes nascidos de ratas que receberam extratos hidroalcoólicos de *Dimorphandra mollis* Benth. e de *T. multiglandulosa*. A aplicação por via intraperitonial diária de extratos hidroetanólicos de *A. glazioviana* em ratas grávidas produziu redução em seu desenvolvimento ponderal bem como aborto e reabsorções fetais (Morona et al. 1992).

MATERIAL E MÉTODOS

Folhas verdes de *Ateleia glazioviana* Baill[5] (Fig. 1 e 2) foram coletadas nos Municípios de Xanxerê, Anita Garibaldi e Celso Ramos, Estado de Santa Catarina, e mantidas sob refrigeração. Parte delas foi dessecada à sombra, para verificar-se a manutenção de sua toxicidade.

Seis vacas gestantes (nºs 38, 23, 37, 47, 39 e 10) receberam a planta verde por via oral; duas vacas (nºs 36 e 27) ingeriram voluntariamente folhas dessecadas à sombra. (Quadro 1)

As dosagens utilizadas variaram de 20 a 35 g/kg de folhas verdes ou o correspondente em folhas dessecadas em doses únicas ou fraccionadas durante 3 a 4 dias.

Todas as vacas utilizadas nos experimentos foram mantidas em piquetes com capim "quicuio" (*Pennisetum clandestinum*), azevém (*Lolium multiflorum*) e trevo (*Trifolium* spp.). A fecundação das vacas foi realizada por monta natural ou através de inseminação artificial, e o diagnóstico de gestação foi confirmado por palpação retal. Antes da fecundação foram realizados exames ginecológicos e sorológicos para brucelose.

Os parâmetros clínicos foram avaliados diariamente durante a experimentação. Após o aborto foram coletados fragmentos de placenta, cotilédones e vísceras dos fetos abortados. As amostras coletadas foram fixadas em formalina a 10%, incluídas em parafina, cortadas em secções de 5 micrômetros e coradas com hematoxilina e eosina.

Todos os trabalhos experimentais foram conduzidos no Setor de Anatomia Patológica do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina.

RESULTADOS

Duas vacas no 200º e 90º dias de gestação (nºs 38 e 23) abortaram no 14º e 6º dias após a ingestação das folhas verdes de *Ateleia glazioviana* em dose única de 35 g/kg ou fraccionada durante 3 dias, respectivamente.

O fornecimento de folhas dessecadas de *A. glazioviana* na dose equivalente a 35 g/kg das folhas verdes, fra-

[5] Material botânico registrado sob nº RB 295650, Jardim Botânico, Rio de Janeiro, RJ.



Fig. 1. *Brotação de* Ateleia glaziovina *Baill. Município de Chapecó, Santa Catarina.*



Fig. 2. A. glazioviana *adulta. Mun. Celso Ramos, Santa Catarina.*

Quadro 1. *Intoxicação experimental por ingestão de* Ateleia glazioviana *em vacas*

Vaca			Planta administrada			Sintomas após a administração da planta		
Nº	Peso (kg)	Gestação (dias)	Quantidade da planta fresca ou correspondente (g/kg)	Dose total (kg)	Nº de administrações	Antes do aborto/parto	Aborto, parto (dias)	Após o aborto/parto
38	332	200	35,0	11,62	1	Salivação, andar cabaleante, decúbito, apetite diminuído	Aborto 14	Corrimento sanguinolento pela vulva
23	400	90	35,0	14,00	3	Pêlo arrepiado, apatia, andar cambaleante, apetite diminuído	Aborto 6	Apatia, anorexia, decúbito
36	290	135	35,0 (17,48 g/kg da folha dessecada)	5,07	4	Apatia, andar cambaleante, apetite diminuído e decúbito	Aborto 16	Sem alterações
47	375	265	30,00	11,25	1	Entumescimento rápido de vulva e úbere	Parto 1	Nascimento de bezerro c/apatia, pouco apetite, recuperando-se ao 2º dia
39	380	265	23,00	80,74	3	Apatia, edema de vulva e úbere, decúbito	Parto 7	Bezerro com dificuldade de permanecer em estação, cabeça baixa, dificuldade em mamar, morte 8 dias após. Retenção de placenta e endometrite
27	414	260	22,0 (10,86 g/kg da folha dessecada)	4,49	1	Andar com dificuldade, cegueira e edema de vulva	Parto 11	Nascimento de bezerro c/apatia, cabeça baixa e recuperação em 3 dias. Retenção de placenta e endometrite
37	380	220	30,00	11,40	1	Sem alterações	Parto 61	Nascimento de bezerro sadio. Retenção de placenta
10	375	98	20,00	7,50	1	Apatia, decúbito, andar cambaleante, pêlo arrepiado	Parto 176	Nascimento de bezerro sadio. Retenção de placenta

cionada em 4 dias, a uma vaca (nº 36) no 135º dia de gestação, provocou aborto no 16º dia após o término do consumo.

Duas vacas (nºs 47 e 39) que ingeriram a planta fresca na dose única de 30 g/kg e na de 23 g/kg fracionada em 3 dias, no 265º dia de gestação, deram nascimento a bezerros fracos.

Uma vaca (nº 27) que recebeu dose única de 22 g/kg da planta dessecada no 260º dia de gestação, deu nascimento a um bezerro fraco.

Uma vaca (nº 37) que recebeu a planta fresca em dose única de 30 g/kg no 220º dia de gestação, teve um bezerro sadio.

Uma vaca (nº 10) que ingeriu dose única de 20 g/kg da planta fresca no 98º dia de gestação, deu nascimento a um bezerro sadio.

Com exceção da vaca nº 37, todas apresentaram alterações clínicas no período compreendido entre 24 e 58 horas após a administração da planta. Estes sinais foram pêlos arrepiados, letargia, andar cambaleante, decúbito, e entumescimento de úbere e vulva naquelas que receberam a planta no final de gestação.

Dos 5 bezerros nascidos naturalmente das vacas que receberam folhas de *A. glazioviana* em doses entre 20 e 30 g/kg, três apresentaram apatia, cabeça baixa e dificuldade em mamar, dois se recuperaram a partir do 3º dia, enquanto que o terceiro morreu no 8º dia de vida.

Das cinco vacas que tiveram nascimento de bezerros em tempo hábil, quatro manifestaram retenção de placenta, sendo que em duas delas ocorreu endometrite.

Nenhuma das vacas usadas na experimentação teve posterior problema de fertilidade.

Em um feto proveniente de um surto de abortos em vacas que ingeriram a planta naturalmente, os exames histológicos revelaram necrose moderada de hepatócitos acompanhada de intensa congestão e hemorragia centrolobulares. Nos fetos abortados em decorrência da intoxicação experimental e em dois suspeitos de intoxicação natural não foi possível observar alterações histológicas devido ao adiantado estado de decomposição.

No bezerro que nasceu em tempo hábil e morreu ao 8º dia após o nascimento, o fígado estava levemente amarelado e o exame histológico revelou necrose de hepatócitos de intensidade moderada e leve congestão centrolobular.

O exame histológico das placentas das vacas experimentais não revelou lesões.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A confirmação de aborto e/ou nascimento de bezerros fracos obtida através de experimentação com folhas verdes e secas de *Ateleia glazioviana* foi possível através da administração de doses iguais ou superiores a 22 g/kg.

A ingestão de *A. glazioviana*, em doses de 23 g/kg e 35 g/kg, fracionadas entre 3 e 4 dias, também produziu aborto e/ou nascimento de bezerros fracos. Desta forma é possível afirmar que a planta tem efeito acumulativo, e que sob condições naturais quando ingerida por vacas gestantes em quantidades menores porém diárias, também poderá causar aborto e/ou alterações clínicas nos recém-nascidos.

Os experimentos realizados 8 meses após a coleta de *A. glazioviana* mostraram que a planta mantém sua toxicidade após a dessecação. Este fato comprova a afirmação de criadores de que os abortos e/ou nascimentos de bezerros fracos também ocorrem no outono, quando as vacas ingerem as folhas que caem após as primeiras geadas.

Os resultados obtidos através da experimentação com *A. glazioviana*, permitem concluir que a maioria dos abortos ocorridos na região Oeste do Estado de Santa Catarina devem-se à ingestão desta planta pelos bovinos. Contribui para esta afirmação a elevada concentração da planta naquela região, bem como a palatabilidade da mesma e a ausência das outras plantas abortivas conhecidas no Brasil.

Analisadas as características epidemiológicas do aborto em bovinos, ocasionado pela ingestão de *A. glazioviana*, é possível diferenciá-lo daquele provocado por doenças infecciosas. Estas doenças em geral provocam aborto em período determinado da gestação e em qualquer época do ano, enquanto que o aborto induzido por *A. glazioviana*, ocorre principalmente no verão e outono e em diferentes fases da gestação.

A constatação de focos de necrose hepática verificada em um feto e um recém-nascido e a ausência de lesões em placentas induz a pensar que o aborto esteja relacionado a lesões hepáticas no feto. Isto é, no entanto, difícil de comprovar mediante o exame de vísceras de fetos abortados, os quais quando encontrados, em geral estão em fase de decomposição.

REFERÊNCIAS

Borges A.R. 1984. Comunicação pessoal. (Citado por Tokarnia et al. 1989)

Langeloh A., Leguizanón F. & Dalsenter P. 1992. Potencial abortivo e infertilizante de plantas brasileiras contaminantes ocasionais de pastagens de bovinos e outros herbívoros de interesse econômico. Pesq. Vet. Bras. 12(1/2):11-18.

Marques D.C., Santos W.L., Couto F.S., Mello M.A., Ribeiro R.P.M. & Ferreira P.M. 1974. Intoxicação experimental pelo tamboril *Enterolobium contortisiliquum* Vell. Morong. em bovinos. Arqs Esc. Vet., Univ. Fed. Minas Gerais 26(3):283-286.

Morona H.R.N., Langeloh A. & Schenkel E.P. 1992. Atividade abortiva de *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae). Pesq. Vet. Bras. 12 (3/4):81-83.

Santos F.C.C., Fischer P., Fichtner S.S., Santos E.E. & Veiga L.S. 1978. Efeitos negativos da fava da faveira (*Dimorphandra mollis*) em condições experimentais, como causa de abortos em vacas. In: Anais XV Congr. Bras. Med. Vet., Rio de Janeiro, out. 1976, p. 31.

Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Döbereiner J., Consorte L.B. & Gava, A. 1989. *Tetrapterys* spp. (Malpighiaceae), a causa de mortalidades em bovinos caracterizadas por alterações cardíacas. Pesq. Vet. Bras. 9(1/2):23-44.

AVALIAÇÃO DE UM TESTE IMUNOENZIMÁTICO COMPETITIVO NA DIFERENCIAÇÃO DE ANTICORPOS INDUZIDOS PELA VACINA B19, NO DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA BRUCELOSE BOVINA[1]

LUÍS A. MATHIAS[2], ALLASTAIR P. MACMILLAN[3], I. GREISER-WILKE[4] e V. MOENNIG[4]

ABSTRACT.- Mathias L.A., MacMillan A.P., Greiser-Wilke I. & Moennig V. 1994. **[Evaluation of a competitive enzyme immunoassay in the differentiation of antibodies induced by strain 19 vaccine, in the serodiagnosis of bovine brucellosis.]** Avaliação de um teste imunoenzimático competitivo na diferenciação de anticorpos induzidos pela vacina B19, no diagnóstico sorológico da brucelose bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira 14(1):19–23*. Depto Med. Veterinária Preventiva, FCAVJ-UNESP, Jaboticabal, SP 14870-000, Brazil.

A competitive enzyme immunoassay was evaluated using as conjugate monoclonal antibodies BM-38 and BM-40, prepared from mice immunized with *Brucella melitensis* 16 M. The competitive enzyme immunoassay was compared with the complement fixation test and an indirect enzyme immunoassay, regarding their efficiency and differential capacity to diagnose brucellosis in cattle vaccinated with *B. abortus* strain 19. Four hundred and twenty-one sera of vaccinated female calves, obtained between 15 days and 6 months after vaccination, were examined. The competitive enzyme immunoassay using conjugate BM-38 revealed a greater number of positive results (44,18%) than the complement fixation test (35,98%) and the competitive enzyme immunoassay using conjugate BM-40 (29,69%). This last test allowed a higher degree of differentiation than the others, since it revealed a lower number of reactors.

INDEX TERMS: Bovine brucellosis, serological diagnosis, competitive enzyme immunoassay.

SINOPSE.- Foi avaliado o teste imunoenzimático competitivo, usando como conjugado os anticorpos monoclonais BM-38 e BM-40, preparados a partir da imunização de camundongos com *Brucella melitensis* 16 M, em comparação com a reação de fixação de complemento e com o teste imunoenzimático indireto, para diferenciar anticorpos da infecção natural dos induzidos pela vacina B19. Foram testados 421 soros de bezerras vacinadas com *B. abortus* amostra B19 e colhidos em intervalos de 15 dias a 6 meses após a vacinação. O teste competitivo usando o conjugado BM-38 apresentou menor capacidade de discriminação que o teste com o conjugado BM-40 (44,18% contra 29,69% de soros com títulos de anticorpos) e que a reação de fixação de complemento (44,18% contra 35,98%) e resultados próximos aos do teste imunoenzimático indireto (54,89% contra 56,17%), enquanto que o teste competitivo usando o conjugado BM-40 apresentou maior capacidade de discriminação do que os outros testes estudados, uma vez que acusou um menor número de reagentes: 28,9% contra 37,6% revelados pela reação de fixação de complemento, 29,69% contra 44,18% revelados pelo teste com o conjugado BM-38 e 43,15% contra 56,85% revelados pelo teste imunoenzimático indireto.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Brucelose bovina, diagnóstico sorológico, teste imunoenzimático competitivo.

INTRODUÇÃO

As campanhas de combate à brucelose bovina têm como uma de suas principais armas o diagnóstico sorológico, que apresenta como vantagens a praticidade e um custo relativamente baixo. Em virtude dessas vantagens, diversas provas sorológicas têm sido utilizadas. Apesar disso, as provas sorológicas estão sujeitas a erros que podem levar tanto a resultados falso-positivos como falso-negativos, o que resulta em um empecilho no combate à enfermidade. A vacinação com a amostra B19 constitui-se numa das principais causas de resultados falso-positivos, erro esse a que a grande maioria dos testes já estudados com aquele propósito está sujeita. De acordo com Alton (1981), em torno de uma em cada 200 bezerras vacinadas mantém reações sorológicas persistentes por longos períodos.

Muitos testes sorológicos, inclusive testes imunoenzimáticos competitivos, já foram estudados com o propósito de diferenciar a reação sorológica induzida pela vacina da reação causada pela infecção. Chin et al. (1989) ava-

1 Aceito para publicação em 12 de novembro de 1993.

2 Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Campus de Jaboticabal, Rodovia Carlos Tonanni, Km 5, Jaboticabal, SP 14870-000, Brasil.

3 Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, Surrey KT15 3NB, United Kingdom.

4 Institut für Virologie, Tierärztliche Hochschule Hannover, Bischofsholer Damn 15, D-3000 Hannover 1, Alemanha.

liaram um teste imunoenzimático competitivo, usando anticorpos monoclonais preparados por Bundesen et al. (1985), na discriminação entre animais infectados e animais vacinados com *B. abortus* amostra B19 e constataram que o teste apresentava limitado valor quando utilizado para testar soros provenientes do campo. Já Nielsen et al. (1989), usando um teste imunoenzimático competitivo realizado com anticorpos obtidos pela imunização de camundongos com *Yersinia enterocolitica* sorogrupo 09, preparados por Bundle et al. (1984), e empregando o antígeno cadeia O de *B. abortus*, concluíram ser possível diferenciar a resposta sorológica de bovinos naturalmente infectados da resposta sorológica induzida pela vacinação com *B. abortus* amostra B19.

Apesar do grande número de trabalhos de pesquisa com essa finalidade, dificilmente se pode afirmar que algum teste já desenvolvido seja capaz de diferenciar animais vacinados de animais infectados, havendo, dessa forma, necessidade de se estudar testes sorológicos que possam apresentar maior capacidade de diferenciação. Assim sendo, o presente trabalho teve por objetivo comparar os resultados revelados por um teste imunoenzimático competitivo, empregando anticorpos monoclonais preparados por Greiser-Wilke et al. (1985), com os resultados revelados pela reação de fixação de complemento e pelo teste imunoenzimático indireto, em soros de bovinos vacinados com *B. abortus* amostra B19.

MATERIAL E MÉTODOS

Soros examinados

Foram testados, através do teste imunoenzimático competitivo usando os conjugados BM-38 e BM-40, 421 soros de bezerras vacinadas com uma dose padrão de *B. abortus* amostra B19. Os soros foram colhidos em intervalos de 15 dias a 6 meses após a vacinação. Desses soros, 391 foram também testados pela reação de fixação de complemento e 241 pelo teste imunoenzimático indireto.

Teste imunoenzimático competitivo

O teste foi realizado conforme descrito por MacMillan et al. (1990). Os conjugados foram preparados com anticorpos monoclonais produzidos por dois clones de hibridomas, BM-38 e BM-40, resultantes da imunização de camundongos da linhagem BALB/C com *B. melitensis* amostra 16 M (Greiser-Wilke et al., 1985). Esses anticorpos monoclonais foram conjugados com peroxidase. O antígeno empregado no teste consistiu de lipopolissacáride (LPS) de *B. abortus* amostra 99, extraído pelo método água quente-fenol quente, descrito por Baker & Wilson (1965). A densidade ótica foi determinada em um aparelho Titertek Multiskan MCC/340.

Teste imunoenzimático indireto

O teste foi realizado conforme descrito por Jeggo & Rothauer (1989). Utilizou-se um conjugado comercial constituído por IgG de coelho anti-IgG de bovino, conjugada com peroxidase (ICN Immunobiologicals, Israel). O antígeno empregado consistiu também no lipopolissacáride de *B. abortus* amostra 99 e a leitura da densidade ótica foi realizada no mesmo aparelho citado anteriormente.

Reação de fixação de complemento

A reação de fixação de complemento foi realizada em microplacas, empregando-se 1,25 unidades de complemento e incubação a 37° C, por 30 minutos, nas duas fases da reação (Brinley-Morgan et al. 1978).

Análise estatística

Para verificar se houve independência entre os resultados revelados pelas provas sorológicas, empregou-se o teste de X^2. Para se efetuar essa análise, os resultados das provas foram classificados em positivos ou negativos. No teste imunoenzimático competitivo, considerou-se como positivo qualquer título obtido e na reação de fixação de complemento considerou-se como positivo o soro com título a partir de 1/4.

Cálculo da concordância

A concordância foi calculada com base na seguinte fórmula:

$$\frac{\text{Positivos ambos os testes + negativos ambos os testes}}{\text{Total de soros}} \times 100$$

Os soros foram classificados em positivos ou negativos conforme o critério mencionado no ítem anterior.

RESULTADOS

A maior parte dos soros de bovinos vacinados com *B. abortus* amostra B19 não apresentou título de anticorpos pelo teste imunoenzimático competitivo (TIEC) usando o conjugado BM-38 ou pela reação de fixação de complemento (RFC). O TIEC revelou a presença de anticorpos em 167 (44,18%) soros, enquanto que a RFC detectou anticorpos em 136 (35,98%) dos 378 soros examinados. Dos 242 soros que não apresentaram título pela RFC, 35 (14,46%) apresentaram títulos pelo TIEC e dos 211 soros negativos por este teste, apenas quatro (1,9%) apresentaram títulos pela RFC (Quadro 1). Considerando-se como positivos para o TIEC os títulos a partir de 1/2 e para a RFC os títulos a partir de 1/4, observa-se uma concordância de 83,33% entre as duas provas. O teste de X^2 revelou, com segurança de 99,5%, dependência entre os resultados revelados pelas duas provas (X^2 = 181,26, com 2 graus de liberdade).

Quadro 1. *Número de soros de bovinos vacinados contra brucelose, distribuídos de acordo com os títulos de anticorpos anti-*Brucella *(recíproca da diluição) revelados pelo teste imunoenzimático competitivo (TIEC) realizado com o conjugado BM-38, em comparação com os títulos revelados pela reação de fixação de complemento (RFC)*

RFC	TIEC (BM-38)							Total
	0	2	4	8	16	32	64	
0	207	12	23	0	0	0	0	242
2	4	3	24	1	0	0	0	32
4	0	0	4	9	0	0	0	13
8	0	0	3	12	1	0	0	16
16	0	0	3	7	8	0	0	18
32	0	0	0	8	22	1	0	31
64	0	0	0	2	8	7	1	18
128	0	0	0	0	1	5	2	8
Total	211	15	57	39	40	13	3	378

De 391 soros de bovinos vacinados com a amostra B19, 113 (28,9%) apresentaram títulos de anticorpos contra *Brucella* pelo TIEC usando c conjugado BM-40 e 147 (37,6%) apresentaram títulos através da RFC. Dos 278 soros que não apresentaram qualquer título pelo TIEC, 35 (12,59%) apresentaram títulos pela RFC, ao passo que, dos 244 soros que não apresentaram título pela RFC, apenas um (0,41%) apresentou título, de 1/4, pelo TIEC (Quadro 2). Constatou-se uma concordância de 95,9% entre as duas provas. O teste de X^2 também revelou dependência significativa entre os resultados dessas duas provas (X^2 = 316,48, com 2 GL).

Quadro 2. *Número de soros de bovinos vacinados contra brucelose, distribuídos de acordo com os títulos de anticorpos anti-*Brucella *(recíproca da diluição) revelados pelo teste imunoenzimático competitivo (TIEC) realizado com o conjugado BM-40, em comparação com os títulos revelados pela reação de fixação de complemento (RFC)*

RFC	TIEC (BM-40)						Total
	0	2	4	8	16	32	
0	243	1	0	0	0	0	244
2	29	4	5	0	0	0	38
4	2	1	7	1	0	0	11
8	2	1	10	5	0	0	18
16	2	0	5	8	4	0	19
32	0	0	10	12	13	0	35
64	0	0	4	10	3	1	18
128	0	0	1	4	1	2	8
Total	278	7	42	40	21	3	391

O TIEC usando o conjugado BM-38 revelou anticorpos em um maior número de soros de bovinos vacinados do que o mesmo teste usando o conjugado BM-40. De 421 soros, 186 (44,18%) apresentaram títulos de anticorpos quando testados com o conjugado BM–38 e 125 (29,69%) apresentaram títulos quando testados com o conjugado BM-40. Nenhum dos soros negativos com o conjugado BM-38 apresentou título com o conjugado BM-40, enquanto que dos 296 soros negativos com o conjugado BM-40, 61 apresentaram títulos, de até 1/8, quando testados com o conjugado BM-38 (Quadro 3). A concordância entre os dois testes, considerando-se como positivos os títulos a partir de 1/2, foi de 85,51%. Foi observada, através do teste de X^2, uma dependência entre os resultados revelados pelos dois testes (X^2 = 224,59, com 2 GL).

Quadro 3. *Número de soros de bovinos vacinados contra brucelose, distribuídos de acordo com os títulos de anticorpos anti-*Brucella *(recíproca da diluição) revelados pelo teste imunoenzimático competitivo (TIEC) realizado com o conjugado BM-38, em comparação com os títulos revelados pelo mesmo teste realizado com o conjugado BM-40*

TIEC (BM-40)	TIEC (BM-38)							Total
	0	2	4	8	16	32	64	
0	235	19	40	2	0	0	0	296
2	0	0	4	2	1	0	0	7
4	0	0	18	23	11	2	0	54
8	0	0	0	16	12	9	0	37
16	0	0	0	1	18	4	1	24
32	0	0	0	0	0	1	2	3
Total	235	19	62	44	42	16	3	421

O teste imunoenzimático indireto (TIEI) apresentou 132 (56,17%) resultados positivos em 235 soros de bovinos vacinados contra brucelose. Destes mesmos soros, o TIEC usando o conjugado BM-38 revelou 129 (54,89%) com algum título de anticorpos. Dos 103 soros negativos pelo teste indireto, dez (9,71%) apresentaram títulos, de até 1/8, pelo teste competitivo, enquanto que dos 106 soros com resultados negativos por este último, 13 (12,26%) apresentaram resultados positivos pelo teste indireto (Quadro 4). Observou-se uma concordância de 90,21% entre as duas provas. O teste de X^2 revelou dependência entre os resultados das duas provas (X^2 = 151,2, com 2 GL).

Quadro 4. *Número de soros de bovinos vacinados contra brucelose, distribuídos de acordo com os títulos de anticorpos anti-*Brucella *(recíproca da diluição) revelados pelo teste imunoenzimático competitivo (TIEC) realizado com o conjugado BM-38, em comparação com os títulos revelados pelo teste imunoenzimático indireto (TIEI)*

TIEI	TIEC (BM-38)							Total
	0	2	4	8	16	32	64	
Negativo	93	0	8	2	0	0	0	103
Positivo	13	4	17	36	42	17	3	132
Total	106	4	25	38	42	17	3	235

Enquanto o TIEI revelou resultados positivos em 137 (56,85%) de 241 soros de bovinos vacinados, o TIEC usando o conjugado BM-40 revelou títulos de anticorpos em 104 (43,15%). De 104 soros negativos pelo teste indireto, apenas quatro (3,85%) apresentaram títulos, de até 1/4, pelo teste competitivo, enquanto que dos 137 soros que não apresentaram título pelo teste competitivo, 37 (27,01%) apresentaram resultados positivos pelo teste indireto (Quadro 5). A concordância observada entre os dois testes foi de 82,99%. Observou-se dependência entre os resultados das duas provas (X^2 = 115,23, com 2 GL).

Quadro 5. *Número de soros de bovinos vacinados contra brucelose, distribuídos de acordo com os títulos de anticorpos anti-*Brucella *(recíproca da diluição) revelados pelo teste imunoenzimático competitivo (TIEC) realizado com o conjugado BM-40, em comparação com os títulos revelados pelo teste imunoenzimático indireto (TIEI)*

TIEI	TIEC (BM-40)						Total
	0	2	4	8	16	32	64
Negativo	100	1	3	0	0	0	104
Positivo	37	2	37	33	24	4	137
Total	137	3	40	33	24	4	241

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que o teste imunoenzimático competitivo (TIEC) usando o conjugado BM-38 apontou um maior número de animais reagentes do que a reação de fixação de complemento –

RFC (Quadro 1), ao passo que o mesmo teste usando o conjugado BM-40 revelou menor número de animais reagentes do que a RFC (Quadro 2). Estes dados mostram que a elevada capacidade de detecção do teste competitivo usando o conjugado BM-38 atribuiu a esse teste menor poder de discriminação do que à RFC, enquanto que o TIEC usando o conjugado BM-40 demonstrou maior capacidade de discriminação dos títulos induzidos pela vacinação do que a RFC. Embora a RFC não seja capaz de diferenciar bovinos vacinados de bovinos infectados, esta prova apresenta maior especificidade que a maioria das provas rotineiramente usadas no diagnóstico da brucelose (Dohoo et al. 1986). O fato de o TIEC usando o conjugado BM-40 ter apresentado maior poder de discriminação, em soros de animais vacinados, significa que, apesar de esta prova não ter sido capaz de fornecer uma diferenciação desejada entre as duas situações, ela apresentou-se vantajosa, quanto a esse propósito, em relação à RFC. Estes resultados diferem um pouco dos achados de Sutherland (1985a), o qual verificou que o TIEC apresentou o mesmo desempenho da RFC, tendo este autor concluído que o TIEC apresenta as mesmas falhas das outras provas sorológicas, ao serem utilizadas no diagnóstico da brucelose em bovinos vacinados com a amostra B19. Da mesma forma, Sutherland & Den Hollander (1986) constataram que o teste competitivo apresentou pouca vantagem em relação à RFC, na diferenciação entre animais infectados e animais vacinados.

Comparando-se os resultados do TIEC com os resultados do teste imunoenzimático indireto (TIEI), ao se testarem soros de animais vacinados, verifica-se que o teste competitivo, usando o conjugado BM-38, indicou um número de animais com resultado positivo próximo ao indicado pelo teste indireto (Quadro 4), o qual, por sua elevada capacidade de detecção, costuma apresentar reduzida especificidade quando usado para testar animais vacinados (Cargill et al. 1988, Sutherland 1985b, Larsen et al. 1988). O TIEC usando o conjugado BM-40 revelou menor número de reagentes que o TIEI (Quadro 5), indicando para aquele teste maior poder de discriminação que o TIEI. Da mesma forma, Rylatt et al. (1985) deduziram que o TIEC demonstrou superioridade em relação ao TIEI, na discriminação entre animais imunizados e animais infectados.

Nielsen et al. (1989), empregando conjugado preparado com os anticorpos monoclonais YsT9-2 e o antígeno cadeia 0 de *B. abortus*, concluíram que o teste imunoenzimático competitivo era capaz de diferenciar bovinos infectados de bovinos vacinados com a amostra B19. Um aspecto importante a ser considerado na metodologia utilizada por aqueles autores é o fato de terem testado os soros na diluição 1/50. No presente trabalho, os soros foram testados a partir da diluição 1/2, o que explica o percentual relativamente elevado de animais reagentes, sendo que com o conjugado BM-38 os títulos mais elevados foram de 1/64 e com o conjugado BM-40 foram de 1/32. No entanto, ao se testarem, com os conjugados BM-38 e BM-40, soros de bovinos comprovadamente infectados, é comum a observação de títulos de anticorpos inferiores a 1/50 (dados não apresentados). Isto significa que, em que pese o maior poder de discriminação do teste empregado por aqueles autores, ao se testarem soros, de bovinos infectados, na diluição 1/50 corre-se o o risco de se obter uma proporção não desprezível de resultados falso-negativos.

Comparando-se os dois conjugados empregados no presente trabalho, observou-se que o TIEC usando conjugado preparado com os anticorpos monoclonais BM-40 apresentou maior poder de discriminação que o mesmo teste usando o conjugado BM-38. Diferenças também são observadas quando se comparam os resultados com aqueles obtidos por outros autores. Neste caso, é importante considerar as características dos anticorpos usados na preparação dos conjugados, uma vez que o comportamento do teste imunoenzimático competitivo depende da especificidade e da afinidade desses anticorpos.

REFERÊNCIAS

Alton G.G. 1981. The control of bovine brucellosis. Recent developments. World An. Rev. 39:17-24.

Baker P.J. & Wilson J.B. 1965. Hypoferremia in mice and its application to the bioassay of endotoxin. J. Bacteriol. 90:903-910.

Brinley-Morgan W.J., MacKinnon D.J., Gill K.P.W., Gower S.G.M. & Norris P.I.W. 1978. Brucellosis Diagnosis: Standard Laboratory Techniques. 2nd ed. Booklet 2084, Ministry of Agriculture Fisheries and Food, Weybridge. 53 p.

Bundesen P.G., Wyatt D.M., Cottis L.E., Blake A.S., Massingham W.A., Fletcher W.A., Street G., Welch J.S. & Rylatt D.B. 1985. Monoclonal antibodies directed against *Brucella abortus* cell surface antigens. Vet. Immunol. Immunopathol. 8:245-260.

Bundle D.R., Gidney M.A.J., Perry M.B., Duncan J.R. & Cherwonogrodzky J.W. 1984. Serological confirmation of *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* 09 0-antigens by monoclonal antibodies. Infect. Immun. 46:389-393.

Cargill C., Lee K. & Clarke I. 1988. Use of an enzyme-linked immunosorbent assay in a bovine brucellosis eradication program. Aust. Vet. J. 62:49-52.

Chin J., Daniels J. & Bundesen P. 1989. Bovine brucellosis: evaluation of field sera by a competitive and superimposable ELISA utilizing a monoclonal antibody against *Brucella abortus* lipopolysaccharide. Vet. Immunol. Immunopathol. 20:109-118.

Dohoo I.R., Wright P.F., Ruckerbauer G.M., Samagh B.S., Robertson F.J. & Forber L.B. 1986. A comparison of five serological tests for bovine brucellosis. Can. J. Vet. Res. 50:485-493.

Greiser-Wilke I., Moennig V., Thon D. & Rauter K. 1985. Characterization of monoclonal antibodies against *Brucella melitensis*. Zbl. Vet. Med. B 32:616-627.

Jeggo M.H. & Rothauer D. 1989. ELISA Kit for the Detection of Antibodies against *Brucella abortus*. International Atomic Energy Agency, Vienna. 25 p.

Larsen J.W.A., Webber J.J. & Edwards L.D. 1988. A field outbreak of bovine brucellosis – comparison of CFT, ELISA and culture results. Aust. Vet. J. 65:30-31.

MacMillan A.P., Greiser-Wilke I., Moennig V. & Mathias L.A. 1990. A competition enzyme immunoassay for brucellosis diagnosis. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 97:83-85.

Nielsen K., Cherwonogrodzky J.W., Duncan J.R. & Bundle D.R. 1989. Enzyme-linked immunosorbent assay for differentiation of the antibody response of cattle naturally infected with *Brucella abortus* or vaccinated with strain 19. Am. J. Vet. Res. 50:5-9.

Rylatt D.B., Wyatt D.M. & Bundesen P.G. 1985. A competitive enzyme immunoassay for the detection of bovine antibodies to *Brucella abortus*

using monoclonal antibodies. Vet. Immunol. Immunopathol. 8:261-271.

Sutherland S. 1985a. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Brucella abortus* in cattle using monoclonal antibodies. Aust. Vet. J. 62:264-268.

Sutherland S. 1985b. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and complement fixation test for the detection of specific antibody in cattle vaccinated and challenged with *Brucella abortus*. J. Clin. Microbiol. 22:44-47.

Sutherland S.S. & Den Hollander L. 1986. Comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies and a complement fixation test for cattle vaccinated and infected with *Brucella abortus*. Vet. Microbiol. 12:55-64.

MICROELEMENTOS MINERAIS E A "CARA INCHADA" DOS BOVINOS[1]

SHEILA S. MORAES[2], GERALDA N. SILVA[3] e JÜRGEN DÖBEREINER[4]

ABSTRACT.- Moraes S.S., Silva G.N. & Döbereiner J. 1994. **[Microelements and the periodontal disease "cara inchada" of cattle.]** Microelementos minerais e a "cara inchada" dos bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira 14(1):25–33.* Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47 Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

"Cara inchada" (swollen face), a periodontal disease of cattle (CI), is considered to be of dietetic origin. Several nutritional factors have been investigated as possible causes, including pasture micronutrient imbalances. The present study includes the assessment of microelement levels in liver and pasture samples from CI farms in central-western and northern Brazil. Copper, molybdenum, cobalt, zinc, manganese and iron levels were determined in 83 liver samples, of which 61 were from CI animals, 17 from healthy and 4 from recovered ones. The 17 healthy bovines were also from farms positive for CI and the 4 recoverd bovines had been transferred to CI negative farms. Copper, molybdenum, sulphur, zinc, manganese and iron were analysed in 76 pasture samples, 48 from CI positive and 28 from CI negative farms. Results indicate low levels of copper in liver samples of both the diseased and healthy animals. High levels of zinc found in the livers of CI animals probably reflect their poor condition. Analysis of Cu, Mo and S in pasture samples indicate a possible influence of sulphur concentration on copper availability. It was concluded that a copper deficiency exists in the pastures where most samples were obtained, independent of the occurrence of CI in the animals. This copper deficiency, predominant in areas of fertile soils, is probably related to a Cu-Mo-S interaction and is not associated with the occurrence of CI.

INDEX TERMS: "Cara inchada" of cattle, periodontal disease, bovine liver, pasture, copper, molibdenum, cobalt, zinc, manganese, iron, sulphur, Cu deficiency, Cu-Mo-S interrelation, Brazil.

SINOPSE.- A "cara inchada" dos bovinos (CI) é considerada como doença peridentária de origem alimentar. Várias hipóteses foram aventadas, levando em conta um possível desequilíbrio de microelementos na dieta animal. No presente estudo foram determinadas as concentrações de microelementos em amostras de fígado e pastagens de fazendas onde ocrre a CI, nas regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil. Teores de cobre, molibdênio, cobalto, zinco, manganês e ferro foram dosados em 83 amostras de fígado bovino, sendo 61 amostras de animais afetados pela CI, 17 de animais sadios e 4 de animais curados. Os 17 animais sadios eram também de fazendas CI-positivas e os 4 animais curados tinham sido transferidos para fazendas indenes. Foram coletadas 48 amostras de pastos onde ocorreu a CI, e 28 de pastegens indenes. Os teores de cobre, molibdênio, enxofre, manganês e ferro foram analisados. Os resultados mostraram teores baixos de cobre tanto nos fígados de bovinos com CI, como nos bovinos sadios. Teores altos de zinco foram encontrados nos fígados dos bovinos com CI, provavelmente resultantes do mau estado nutricional dos animais. Os teores de cobre, molibdênio e enxofre encontrados nas amostras de pastagens mostraram a possível influência da concentração do enxofre sobre a disponibilidade do cobre. Concluiu-se que existe deficiência de cobre na região de onde a maioria das amostras foram coletadas, independente da ocorrência da CI. Esta deficiência, predominantemente nas regiões de terras férteis, está provavelmente relacionada à interação Cu-Mo-S e não é fator desencadeador da CI nos bovinos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: "Cara inchada" dos bovinos, doença peridentária, fígado bovino, pastagens, cobre, molibdênio, cobalto, zinco, manganês, ferro, enxofre, deficiência de Cu, interrelação Cu-Mo-S.

INTRODUÇÃO

A "cara inchada" dos bovinos (CI), doença que ocorre, sobretudo, na região Centro-Oeste do Brasil, onde os pastos, na maior parte de capim-colonião (*Panicum maximum*) e braquiária (*Brachiaria decumbens*), foram formados após a abertura de fazendas em regiões de mata e de cerrado. A doença inicia-se na fase da primeira dentição, e caracteriza-se, clinicamente, por periodontite purulenta e, muitas vezes, por abaulamento uni ou bilateral dos ossos maxilares e raramente mandibulares. A formação de bolsas peridentárias já pode ser observada em bezerros de 1 a 2 meses de idade. As lesões inciam-se a nível dos dentes premolares, por vezes molares, em erupção e crescimento. Os bezerros doentes, em mau estado nutri-

1 Aceito para publicação em 2 de dezembro de 1993.

2 Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC), Embrapa, Caixa Postal 154, Campo Grande, MS 79002-970.

3 Bolsista do CNPq.

4 Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305294/88-1).

cional e com crescimento retardado, quando chegam à idade de desmame, emagrecem ainda mais e muitos deles morrem por desnutrição em face da dificuldade de mastigação e da freqüente diarréia. Nos animais que sobrevivem, há tendência de cura das lesões peridentárias, favorecida pela perda dos dentes frouxos. Animais adultos, com arcada dentária formada, não adoecem mais da CI; mas adultos que adquiriram a doença quando jovens podem continuar com a periodontite e freqüntemente comprometem também os dentes molares caso os animais permaneçam em pastos CI-positivos. Döbereiner et al. (1974) sugeriram que a doença poderia ser causada por um ou mais fatores ligados à alimentação.

A transferência de bezerros desmamados com CI para região indene com pastagem natural, em campo de cerrado, ou o confinamento e arraçoamento adequado, resultou em melhoria do seu estado de nutrição, cura clínica das lesões peridentárias e regressão do abaulamento ósseo da face, num período de aproximadamente 5 meses (Döbereiner et al. 1975, Rosa et al. 1976). Excluíram-se como fatores causais da CI, a composição botânica da pastagem e queima da mata derrubada na formação dos pastos (Döbereiner et al. 1976, 1978).

Havia suspeita de que a CI fosse uma doença de origem carencial ou resultante de um desequilíbrio mineral, com envolvimento de cálcio e fósforo, bem como de outros minerais (Camargo & Nazário 1974). Análises químicas de amostras de pastagem, soro sangüíneo e fígado de bovinos afetados, e experimentos com suplementação mineral levaram alguns autores (Fabiani et al. 1980, Camargo 1981a,b, Nazário 1984) a concluir que a etiologia da CI estaria relacionada com teores baixos de cobre e zinco nas pastagens, além de uma possível interrelação do seu teor de cobre, molibdênio e enxofre.

Nunes et al. (1979), estudando as alterações ósseas em bovinos desmamados afetados pela CI, interpretaram os seus achados como sendo de osteodistrofia fibrosa generalizada e de hiperparatiroidismo secundário, o que os levou a suspeitar de uma deficiência de cálcio como causa principal da doença.

Sousa et al. (1986) estudaram o efeito da suplementação mineral sobre a incidência da CI em pastagens de *Brachiaria decumbens*. Animais doentes foram agrupados em tratamentos e suplementados com misturas minerais ricas em macro e microelementos. Os resultados foram inconclusivos, sem uma indicação clara do efeito dos tratamentos com suplementos minerais sobre a cura ou regressão das lesões peridentárias, suspeitando-se porém que o cobre teria um efeito benéfico.

Os resultados de análises espectrográficas de amostras de forrageiras (*P. maximum, B. decumbens*), coletadas em 12 fazendas de ocorrência da CI e em 8 fazendas indenes, nos Estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Acre, não revelaram nenhuma correlação entre as concentrações dos elementos detectáveis nas amostras de pastos dos dois grupos de fazendas, positivas e negativas para a doença (Castro & Döbereiner 1978).

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a suposta relação entre o teor de microelementos minerais e a ocorrência da CI em bovinos criados e mantidos em pastos recém-formados em regiões de mata e de cerrado.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de fígado de bovinos zebús, machos e fêmeas de diferentes idades, acometidos pela "cara inchada" (CI) e de bovinos sadios, com as mesmas características, criados em fazendas CI-positivas e de bovinos curados e mantidos em fazendas CI-negativas, das regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil foram coletadas no período de 1969 a 1980 e estocadas em solução de formol a 10%, conforme técnica seguida por Tokarnia et al. (1959). Os bovinos curados são aqueles que foram transferidos dos pastos cultivados de fazendas positivas para CI do vale do Jurigue, região de Rondonópolis, para área considerada indene, de cerrado nativo na região de Itiquira, Mato Grosso.

Amostras de forrageiras constituídas, na maioria, de capim-colonião (*Panicum maximum*) e também de braquiária (*Brachiaria decumbens*) foram coletadas nas fazendas acima mencionadas, em diferentes épocas dos anos de 1973 a 1980.

Para a dosagem dos microelementos no fígado, o procedimento analítico se deu em duas etapas. Primeiramente evaporou-se o formol em banho-de-areia a 100°C, reduziu-se o material em pequenos fragmentos, promoveu-se a secagem em estufa a 90°C por 12 horas e a trituração em gral de porcelana até apresentar aspecto homogêneo. A segunda etapa consistiu na solubilização da amostra através de digestão ácida ($HNO_3/HClO_4$). A leitura dos teores de cobre, zinco, manganês e ferro foi feita em espectrofotômetro de absorção atômica Varian-Techtron AA5 e, dos teores de molibdênio e cobalto num aparelho Varian-Techtron AA6 equipado com forno de grafite CRA-90, corretor de fundo modelo BC-6 e pipetados automático ASD-53 (Tristão & Moraes 1984). Utilizaram-se Titriplex/Merck para a curva de padrão e o NBS "bovine liver" 1577 para verificar a precisão analítica do método.

As amostras de forrageiras coletadas, após secagem natural, foram trituradas num moinho de aço inoxidável tipo Wiley e sofreram em seguida digestão "nítrico-perclórica". Os elementos minerais dosados foram os mesmos das amostras de fígado, no mesmo aparelho, com exceção do cobalto, o que não foi considerado necessário neste tipo de amostra. A concentração de enxofre total foi determinada pelo método gravimétrico, segundo o AOAC (1975).

Para a interpretação dos valores analíticos do fígado, foram considerados os seguintes teores como normais (adequados), subdeficientes ou deficientes, baseando-se nos dados encontrados em Underwood (1977), também seguidos por pesquisadores brasileiros (Tokarnia et al. 1988). Esses teores são, para cobre (Cu): 0-50 ppm indicam deficiência, 50-100 ppm subdeficiência e acima de 100 ppm índice adequado; molibdênio (Mo): valores normais 2-4 ppm; cobalto (Co): abaixo de 0,05 ppm indicam deficiência, 0,05-0,12 ppm subdeficiência e acima de 0,12 ppm índice adequado; zinco (Zn): são considerados valores normais aqueles situados na faixa de 100-200 ppm; manganês (Mn): valores normais 6-12 ppm; ferro (Fe): valores normais 180-380 ppm. Os valores de cobalto nas amostras do fígado de bovinos com idade abaixo de 9 meses não foram levados em consideração (McNaught 1948).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Concentração dos microelementos no tecido hepático

Nos Quadros 1 e 2 constam os teores dos microelementos no fígado de bovinos com CI e de sadios manti-

Quadro 1. *Teores de microelementos no fígado de bovinos com "cara inchada" (CI) em fazendas CI-positivas*

Bovino nº	Sexo	Idade	Lesões peridentárias	Fazenda	Região/pasto	Município	Estado	Incidência CI	Elementos minerais (ppm)					
									Cu	Mo	Co	Zn	Mn	Fe
Fazendas na região de Rondonópolis														
2687	f	10 meses	+++	Jaborandi	Mata/*P. maximum*	Jaciara	MT	+b	13,0	3,2	0,253	672,0	6,0	917,0
2689	f	10 meses	+++	Jaborandi	Mata/*P. maximum*	Jaciara	MT	+	18,6	3,6	0,288	281,2	11,4	549,6
2692	f	10 meses	++	Jaborandi	Mata/*P. maximum*	Jaciara	MT	+	18,1	2,7	0,363	230,0	9,3	1.000,0
2695	f	8 meses	++	São Lourenço	Mata/*P. maximum*	Jaciara	MT	+	36,0	3,5	0,364	211,0	9,0	631,0
2696	f	12 meses	++	Água Grande	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	+	15,6	1,9	0,275	369,0	6,8	506,0
3326	f	8 meses	++	São João	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	+	83,6	1,8	0,340	343,6	7,6	327,5
3327	f	12 meses	+++	São João	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	375,7	3,4	0,355	175,7	11,2	534,2
3401	m	45 dias	+	Paulicéia	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	142,3	2,8	0,237	229,9	4,8	229,9
3413	f	30 meses	++	Bacuri	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	+	87,3	–	0,540	105,5	9,3	495,3
3414	f	9 meses	+++	Bacuri	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	+	25,6	2,5	0,430	227,7	9,0	524,2
3415	m	2 anos	+++	Santa Escolástica	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	59,8	2,8	0,142	428,0	10,9	421,0
3416	f	1 mês	+	Sto Antonio do Jurigue	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	150,4	5,1	0,113	142,3	8,7	1.396,0
3417	f	4 anos	++	Sto Antonio do Jurigue	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	15,0	5,2	0,205	197,5	7,5	764,1
3425	m	30 meses	+++	São Manoel	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	135,0	6,3	0,439	330,2	8,9	416,7
3730	m	10 meses	+++	Paulicéia	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	56,5	4,2	0,368	490,7	10,6	793,7
3731	f	10 meses	+++	Nova Era	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	22,5	5,0	0,580	606,2	8,9	675,0
3732	f	10 meses	+++	São Manoel	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	117,5	5,0	0,575	500,2	9,0	450,1
3733	m	3 meses	+++	Nova Era	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	218,8	4,5	0,360	546,7	7,5	844,0
3786	m	30 meses	+	Rio Vermelho	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	+	59,5	7,3	0,240	145,6	9,4	125,9
3862	m	8 meses	+++	Sto Antonio do Jurigue	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	35,3	6,8	0,288	362,8	9,9	994,5
3863	m	8 meses	++	Sto Antonio do Jurigue	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	17,7	2,3	0,241	139,4	11,3	396,2
3864	m	8 meses	+++	Sto Antonio do Jurigue	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	151,4	3,2	0,353	165,8	9,8	244,0
3865	m	8 meses	+	Sto Antonio do Jurigue	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	118,4	2,8	0,202	136,8	12,6	159,2
Fazendas situadas em outras regiões														
2825	f	6 anos	++	Jaboti	Mata/*P. maximum*	Barra dos Bugres	MT	+	698,0	3,1	0,244	142,2	11,5	625,0
3328	f	2 meses	++	Santa Izabel	Mata/*P. maximum*	Torixoréu	MT	++	129,1	2,3	0,190	302,0	5,5	216,4
3333	m	18 meses	+	Santa Rosa	Mata/*P. maximum*	Barra dos Bugres	MT	+	321,3	2,4	0,534	134,3	13,5	293,7
3354	m	12 meses	+	Diamante	Várzea	Porto Murtinho	MS	+	235,8	2,4	0,221	463,2	5,1	118,0
3409	m	12 meses	++	Santa Izabel	Mata/*P. maximum*	Torixoréu	MT	++	66,6	2,0	0,231	231,5	9,7	221,1
3410	m	5 anos	+++	Santa Izabel	Mata/*P. maximum*	Torixoréu	MT	++	120,6	2,2	0,430	168,3	9,3	276,4
3420	f	2 anos	++	Volta Grande	Mata/*P. maximum*	Poxoréu	MT	+	117,1	2,6	0,522	111,6	10,2	511,8
3719	m	7 meses	++	Marata	Cerrado/Brach.	Pires do Rio	GO	+	16,4	2,0	0,720	308,6	6,3	121,2
3721	m	30 meses	++	São Francisco	Cerrado/Brach.	Pires do Rio	GO	+	312,1	1,8	0,201	737,2	9,2	551,8
3748	m	15 meses	+++	Vista Alegre	Mata/*P. maximum*	Ivinhema	MS	+	89,9	2,1	0,640	187,9	8,7	518,4
3752	f	5 anos	+	Pecuama	Mata/*P. maximum*	Arenapólis	MT	+	172,7	0,9	0,400	135,4	7,3	1.729,0
3758	m	7 meses	+++	Agrosan	Mata/*P. maximum*	Diamantina	MT	++	226,6	5,3	0,303	223,6	11,2	503,0
3761	f	8 anos	+++	Estrela do Guaporé	Mata/*P. maximum*	Mato Grosso	MT	+++	438,1	8,2	0,357	189,8	8,2	838,2
3762	f	9 anos	++	Estrela do Guaporé	Mata/*P. maximum*	Mato Grosso	MT	+++	73,2	6,2	0,740	334,5	6,8	169,3
3763	f	9 meses	+++	Estrela do Guaporé	Mata/*P. maximum*	Mato Grosso	MT	+++	288,7	4,7	1,328	526,5	5,6	308,4
3764	m	7 meses	+++	Estrela do Guaporé	Mata/*P. maximum*	Mato Grosso	MT	+++	467,5	2,9	2,710	547,8	6,9	681,2
3784	m	2 anos	+	Santo Ildefonso	Mata/*P. maximum*	Barra do Garças	MT	++	22,8	9,3	0,106	579,8	8,3	110,8
3785	m	4 anos	+	Santo Ildefonso	Mata/*P. maximum*	Barra do Garças	MT	++	365,1	4,0	0,311	878,1	9,4	1.618,7
3788	f	12 meses	++	Tarigara	Mata/*P. maximum*	Barão do Melgaço	MT	+	298,5	2,0	0,380	1.576,9	13,6	1.325,8
3800	f	3 anos	+	Cavaco	Mata/*P. maximum*	Xapuri	AC	+	591,0	2,0	0,377	132,0	11,2	65,2
3801	f	4 anos	+	Cavaco	Mata/*P. maximum*	Xapuri	AC	+	274,3	4,4	0,331	154,9	8,2	355,7
3805	f	3 anos	+	São João do Riozinho	Mata/*P. maximum*	Rio Branco	AC	+	1.088,8	6,8	0,245	281,9	8,3	241,0
3806	f	12 meses	++	São João do Riozinho	Mata/*P. maximum*	Rio Branco	AC	+	535,1	5,6	0,251	200,8	10,8	375,0
3807	f	4 anos	+++	Jaraguá	Mata/*P. maximum*	Rio Branco	AC	++	650,2	4,2	0,470	309,8	8,4	224,9
3813	f	5 anos	+++	São Francisco	Mata/*P. maximum*	Barra dos Bugres	MT	+	564,5	2,1	0,421	607,8	2,5	845,5
3814	m	4 anos	+++	Guarani	Mata/*P. maximum*	Barra dos Bugres	MT	+	554,5	2,8	0,310	280,3	9,9	255,5
3873	f	5 anos	++	Lote 168 – Sinop	Mata/*P. maximum*	Nobres	MT	+	87,4	2,9	0,396	98,1	10,7	171,1
3895	m	4 meses	+++	Lote 168 – Sinop	Mata/*P. maximum*	Nobres	MT	+	426,1	2,0	0,238	248,5	7,8	364,2
3896	m	4 meses	+++	Lote 168 – Sinop	Mata/*P. maximum*	Nobres	MT	+	224,2	3,7	2,502	305,8	7,2	381,7
3897	m	12 meses	+	Santa Maria	Mata/*P. maximum*	Mato Grosso	MT	+++	155,7	2,8	0,728	414,0	7,9	884,3
3898	m	40 dias	+	Santa Maria	Mata/*P. maximum*	Mato Grosso	MT	+++	208,2	1,8	0,580	455,5	4,9	985,7
3899	f	4 anos	++	Santa Maria	Mata/*P. maximum*	Mato Grosso	MT	+++	120,9	3,5	0,654	219,1	7,6	493,0
4519	f	4 anos	+	Paiol	Cerrado/Brach.	Nobres	MT	+++	162,3	1,5	0,666	326,2	13,9	739,2
4520	m	5 meses	+	Paiol	Cerrado/Brach.	Nobres	MT	+++	142,7	1,4	0,099	332,7	8,5	177,8
4544	f	4 anos	+	ABC (Apasa)	Mata/*P. maximum*	Diamantina	MT	+	951,0	1,7	0,186	440,9	7,9	1.270,0
4545	m	4 anos	+	ABC (Apasa)	Mata/*P. maximum*	Diamantina	MT	+	481,4	2,1	0,122	209,6	10,1	721,3
4546	f	5 anos	+	ABC (Apasa)	Mata/*P. maximum*	Diamantina	MT	+	488,7	1,7	0,215	164,6	12,1	698,1
4547	f	6 anos	+	Paiol	Cerrado/Brach.	Nobres	MT	+	218,7	1,5	0,190	175,6	14,4	647,8

[a] +++ Lesões peridentárias de grande extensão, ++ de extensão média, + localizadas (Pd_3–Pd_4).
[b] +++ Incidência alta, ++ moderada, + pequena.

Quadro 2. *Teores de microelementos no fígado de bovinos sadios em fazendas CI-positivas*

Bovino nº	Sexo	Idade	CI	Fazenda	Região/pasto	Município	Estado	Inc. CI	Microelementos (ppm)					
									Cu	Mo	Co	Zn	Mn	Fe
Fazendas na região de Rondonópolis														
2693	f	6 anos	Sadio	Jaborandi	Mata/*P. maximum*	Jaciara	MT	+[a]	12,5	3,2	0,363	126,5	9,3	212,2
3422	f	15 anos	Sadio	Santa Escolástica	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	97,1	3,9	0,150	95,5	14,9	662,5
3423	f	6 anos	Sadio	Santa Escolástica	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	40,0	2,5	0,162	100,6	10,7	312,2
3446	m	9 meses	Sadio	Santa Escolástica	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	5,5	4,0	0,470	207,6	9,1	491,5
3447	m	5 anos	Sadio	Santa Escolástica	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	9,5	4,5	0,450	110,6	12,6	256,2
3787	m	4 anos	Sadio	Rio Vermelho	Alto Pant./*P. maximum*	Rondonópolis	MT	+	209,8	5,8	0,237	135,6	9,0	102,8
2924	m	2 anos	Sadio	Rio Vermelho	Alto Pant./*P. maximum*	Rondonópolis	MT	+	567,0	–	0,199	142,4	7,8	309,0
3426	m	5 meses	Sadio	Sto Ant. Jurigue	Mata/*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	27,8	–	0,242	103,1	7,1	260,2
Fazendas situadas em outras regiões														
3749	m	5 anos	Sadio	Vista Alegre	Mata/*P. maximum*	Ivinhema	MS	+	78,2	2,4	1,060	112,2	8,5	639,5
3754	f	6 anos	Sadio	São Francisco	Mata/*P. maximum*	Barra dos Bugres	MT	+	178,1	1,6	0,600	135,4	6,9	1.729,1
3755	m	2 anos	Sadio	Nova Zelândia	Mata/*P. maximum*	Ch. dos Guimarães	MT	++	587,6	3,1	0,740	234,5	12,6	93,8
3759	f	5 anos	Sadio	Agrosan	Mata/*P. maximum*	Diamantina	MT	++	149,5	3,1	0,660	114,6	10,9	109,2
3760	f	20 meses	Sadio	Agrosan	Mata/*P. maximum*	Diamantina	MT	++	330,1	1,2	0,048	124,5	5,9	482,0
3030	m	5 anos	Sadio	Santa Isabel	Mata/*P. maximum*	Torixoréu	MT	++	100,0	–	0,390	117,8	11,2	722,1
3332	f	4 anos	Sadio	Santa Rosa	Mata/*P. maximum*	Barra dos Bugres	MT	+	56,3	–	0,054	41,5	3,7	206,2
4542	m	3 anos	Sadio	São Francisco	Mata/*P. maximum*	Barra dos Bugres	MT	+	64,4	2,5	0,195	178,0	8,3	318,6
4543	m	3 anos	Sadio	São Francisco	Mata/*P. maximum*	Barra dos Bugres	MT	+	133,4	1,4	0,190	140,7	11,2	1.742,5

[a] ++ Incidência moderada, + pequena.

dos em pastos positivos para CI na região de Rondonópolis e em outras regiões do Centro-Oeste e Norte do Brasil. No Quadro 3, estes teores são agrupados de acordo com os diferentes níveis dos microelementos encontrados.

Em relação aos teores de cobre, verifica-se que os bovinos na região de Rondonópolis, na sua maioria, são carentes (deficientes e subdeficientes) neste elemento (em 65,2 e 75,0% dos animais), independentemente de serem afetados pela CI ou não. Por outro lado, amostras de fígado de bovinos com CI coletadas em fazendas de outras regiões, positivas para a doença, revelaram na sua maioria (84,2 e 55,6%) teores normais ou elevados de cobre. Disto pode-se deduzir que a CI não está relacionada com

Quadro 3. *Níveis de microelementos no fígado de bovinos com "cara inchada" (CI) e sadios, criados e mantidos em fazendas de ocorrência da doença, na região de Rondonópolis e outras no Centro-Oeste e Norte do Brasil*

Micro-elementos	Níveis	Região de Rondonópolis				Outras regiões			
		Bovinos com CI		Bovinos sadios		Bovinos com CI		Bovinos sadios	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Cu	Deficientes	10	43,5	5	62,5	2	5,3	0	
	Subdeficientes	5	21,7	1	12,5	4	10,5	4	44,4
	Normais/elevados	8	34,8	2	25,0	32	84,2	5	55,6
Mo	Baixos	2	9,1	0		8	21,0	3	42,9
	Normais	11	50,0	4	66,7	21	55,3	4	57,1
	Elevados	9	40,9	2	33,3	9	23,7	0	
Co	Deficientes	0		0		0		1	11,1
	Subdeficientes	0		0		2	8,7	1	11,1
	Adequados	23	100	8	100	21	91,3	7	77,8
Zn	Baixos	0		1	12,5	1	2,6	1	11,1
	Normais	8	34,8	6	75,0	11	29,0	7	77,8
	Elevados	15	65,2	1	12,5	26	68,4	1	11,1
Mn	Baixos	1	4,4	0		5	13,2	2	22,2
	Normais	21	91,2	6	75,0	29	76,3	6	66,7
	Elevados	1	4,4	2	25,0	4	10,5	1	11,1
Fe	Baixos	2	8,7	1	12,5	7	18,4	2	22,2
	Normais	3	13,0	5	62,5	11	29,0	2	22,2
	Elevados	18	78,3	2	25,0	20	52,6	5	55,6

os níveis baixos de cobre nos animais, mas sim que esses valores indicam que há uma acentuada deficiência deste microelemento na região de Rondonópolis.

Os teores de molibdênio nas amostras de fígado são, na sua maioria, normais ou, em menor escala, elevados, com grande variação tanto nos bovinos com CI como nos sadios. Os animais curados têm valores hepáticos mais elevados do que aqueles com lesões peridentárias de CI e os sadios. Os ruminantes, particularmente os bovinos, são bem sensíveis a níveis altos de molibdênio na dieta, no entanto, a concentração hepática não é muito significativa na detecção de uma molibdenose (Underwood 1977, McDowell et al. 1984), a não ser quando as pastagens são contaminadas por compostos com alto teor de molibdênio (Sas 1989), o que não é o caso deste estudo.

Os teores de cobalto são adequados nas amostras de todos os animais com CI, de mais de 8 meses de idade, da região de Rondonópolis e de quase todos os animais com CI (96,8%) das outras regiões. Os teores desse microelemento nas amostras de fígado dos bovinos sadios em fazendas CI-positivas são todos adequados e também na grande maioria das amostras de bovinos sadios (77,8%) de fazendas CI-positivas das outras regiões.

Os teores de zinco no fígado dos bovinos com CI, tanto na região de Rondonópolis como dos bovinos nas outras regiões, são mais elevados (65,2 e 68,4%) do que aqueles que não apresentavam a doença ou tinham sido curados. É sabido que o zinco faz parte de uma gama de metaloenzimas, principalmente aquelas ligadas à síntese de proteínas e ácidos nucléicos. Quando o conteúdo hepático de zinco é aumentado, este está freqüentemente associado a metalotionina. A síntese desta metaloproteína é induzida por numerosos estímulos fisiológicos, como o estresse, infecção aguda e "choque" (Cousins 1979, Di-Silvestre & Cousins 1984).

Os teores de manganês estão, em sua maior parte, na faixa considerada normal.

Os teores de ferro variam bastante em seus níveis e devem ser ligados à deficiência de cobre nos animais ou à suplementação mineral utilizada nas diferentes fazendas.

Dos dados analíticos apresentados no Quadro 4, de quatro animais curados da CI após serem transferidos para fazendas indenes, pode-se deduzir que os teores de cobre, cobalto e manganês estão todos nas faixas adequadas. Os teores de molibdênio são normais (25%) ou elevados (75%). Os teores de zinco são normais (25%) ou ligeiramente baixos (75%) e os de ferro normais (50%) ou um pouco baixos (50%).

Quadro 4. *Teores de microelementos no fígado de bovinos transferidos a fazenda Triunfo, Itiquira, MT, com pasto de cerrado nativo, CI-negativa, e curados da doença*

Bovino nº	Sexo	Idade	Microelementos (ppm)					
			Cu	Mo	Co	Zn	Mn	Fe
3744	m	9 meses	161,1	9,9	0,520	107,2	10,7	254,2
3745	m	1 ano	137,2	10,0	0,240	95,2	11,7	157,4
3746	m	8 meses	177,6	2,9	0,210	72,7	11,5	237,0
3747	m	9 meses	126,2	8,6	0,250	96,6	11,6	168,4

Concentração dos microelementos nas forrageiras

A média dos resultados da análise de microelementos das amostras dos pastos com ocorrência de CI e outros indenes encontram-se no Quadro 5, constando nos Quadros 6 e 7 os valores de cada amostra. Os microelementos analisados foram cobre, molibdênio, zinco, manganês e ferro. Foi incluída a análise de enxofre, a fim de avaliar sua interação na absorção de cobre, em presença de molibdênio.

Quadro 5. *Media dos teores de elementos minerais em pastos CI-positivos e negativos*

Microelementos	Pastos	nº	$\bar{X}$
Cu (ppm)	Positivo CI	48	8,11[a]
	Negativo CI	28	7,90[a]
Mo (ppm)	Positivo CI	28	0,796[b]
	Negativo CI	21	2,062[a]
S (g %)	Positivo CI	45	0,265[a]
	Negativo CI	26	0,282[a]
Zn (ppm)	Positivo CI	48	27,371[a]
	Negativo CI	28	26,90[a]
Mn (ppm)	Positivo CI	48	168,24[a]
	Negativo CI	28	170,76[a]
Fe (ppm)	Positivo CI	48	89,17[a]
	Negativo CI	28	142,14[a]

a Teste de Tukey; letras diferentes no mesmo grupo (b,a) indicam diferenças estatisticamente significativas ($P<0,05$).

Os resultados de forrageiras foram distribuídos dentro das concentrações estabelecidas pelo NRC (1984) como requisitos de microelementos minerais na dieta de bovinos de corte (Fig. 1).

Cobre. Os teores de cobre, como se pode ver na Fig. 1a, encontram-se, na maior parte, dentro dos limites de requisitos normais, tanto nas pastagens positivas para CI (53%), como nas negativas (60,7%). Se estes resultados forem analisados de acordo com as recomendações do ARC (1980), o quadro muda (Fig. 1b). A faixa de requisitos considerados pelo ARC, para bovinos em crescimento, é de 8 a 14 ppm/MS de cobre. Dessa forma, a maioria dos resultados para cobre é inferior ao mínimo dos requisitos normais, tanto nas forrageiras das pastagens positivas (53,6%), como das negativas para CI (57,2%). Comparando-se as concentrações de cobre em relação às pastagens incidentes ou não, verifica-se que não apresentam diferenças estatisticamente significativas ($P > 0,05$) (Quadro 5). Como as pastagens são na maioria de capim-colonião, normalmente, cultivados em solos férteis, fez-se necessário avaliar com maior profundidade este aspecto, considerando-se também que existe a deficiência de cobre clinicamente diagnosticada (veja a seguir nos tópicos referentes a Mo e S).

Molibdênio. Com relação aos requisitos para molibdênio, o NRC (1980) coloca o teor de 0,01 ppm/MS ou menos, como requisito para bovino de corte. Já o NRC (1984) não faz referência a nenhuma concentração, e

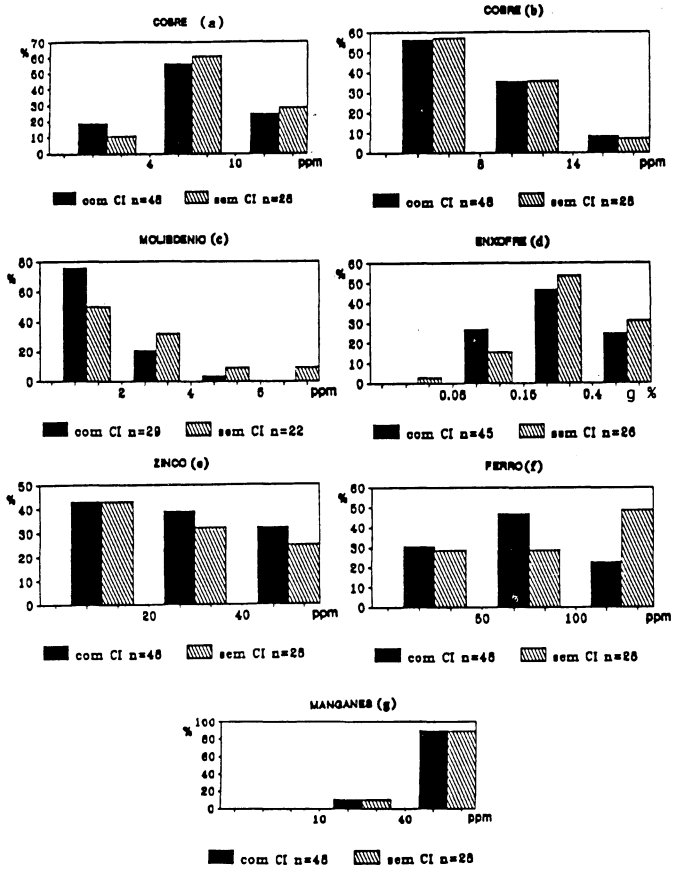


Fig. 1. *Distribuição percentual das concentrações de microelementos em forrageiras de regiões da incidência de CI e onde a doença não ocorreu, distribuído dentro da faixa de requerimentos respectivos para bovino de corte (ARC 1980, NRC 1984).*

considera difícil estabelecer uma faixa de requerimento, para molibdênio, devido a sua interrelação com cobre e sulfato. Ambos os trabalhos citam que, pastos com teores de 6 ppm/MS, são capazes de produzir sinais de molibdenose. Os teores de molibdênio analisados estão agrupados na Fig. 1c, em ordem crescente até o limite considerado tóxico. Pode-se observar que a maioria dos resultados, tanto para os pastos positivos para CI (75%), como para os pastos negativos (50%), apresentam teores inferiores a 2 ppm e, que só em algumas pastagens sem incidência de CI, ocorreram teores superiores aos níveis tóxicos (9%).

No Quadro 5 os teores médios de molibdênio, nas pastagens onde não havia incidência da CI, foram significativamente mais elevados que nos pastos com incidência ($P > 0,05$). Este resultado demonstra que existem, na região, teores elevados de molibdênio, mas não tem relação com a ocorrência da CI.

Enxofre. Para enxofre, a faixa considerada adequada pelo NRC (1984) é de 0,08% a 0,15%/MS, e o limite máximo tolerável é de 0,4%/MS. Na Fig. 1d, foi feita a distribuição dos níveis de enxofre dos pastos com e sem incidência da CI, dentro dos referidos limites. Para ambas situações, os teores de enxofre encontram-se, na maioria, no limite máximo tolerável (53,8% para pastagens CI-negativas e 46,6% para as pastagens CI-positivas). O restante dos resultados está distribuído entre teores adequados (26% pastagens positivas e 15% pastagens negativas) e acima do limite máximo tolerável (24,4% para as pastagens positivas e 30,8% para as negativas). Estes resultados mostram a predominância de teores altos de enxofre em relação aos de molibdênio. Pode-se verificar também, no Quadro 5, que a média dos teores de enxofre foi levemente superior nos pastos onde não ocorreu a CI. Nos pastos positivos para CI, no entanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($P > 0,05$). Suttle (1974) demonstrou que o enxofre exerce um efeito independente sobre a disponibilidade de cobre para bovinos, sendo maior do que o efeito junto com molibdênio. Para verificar o efeito inibidor de molibdênio e enxofre sobre a absorção de cobre, este autor trabalhou com teores que variaram de 1 a 4 ppm/MS de molibdênio e de 1 a 4g%/MS de enxofre. Com este estudo, o autor estabeleceu uma fórmula e correlação que permite estimar com segurança o percentual de disponibilidade do cobre, em plantas para bovinos, já adotado no ARC (1980). Aplicou-se a fórmula nas médias dos resultados do Quadro 2 e verificou-se que, nos pastos com incidência de CI, o coeficiente de cálculo para cobre disponível foi de 0,041 e, naquelas sem incidência de CI, o coeficiente foi de 0,036. Aplicando-se estes coeficientes aos teores médios de cobre do Quadro 5, verifica-se que a quantidade de cobre realmente disponível para o animal é de 0,33 ppm para os pastos com incidência de CI e de 0,28 ppm nos pastos onde não ocorre a CI.

Este exercício é somente um exemplo, de como os resultados deste estudo da CI podem ser utilizados para interpretar a ocorrência clínica de deficiências de cobre, numa região cujas pastagens apresentam o teor de cobre adequado, porém, teores consideráveis de molibdênio e principalmente de enxofre. Price & Chasters (1985) demostraram que alta concentração de proteína, proveniente de pastagens verdes, pode resultar em alta produção de sulfetos no rúmen. O enxofre tem efeito predominante sobre a disponibilidade do cobre para bovinos, enquanto que o molibdênio tem um efeito menor e dependente do enxofre.

Zinco. Os teores de zinco são apresentados na Fig. 1e, distribuídos dentro dos requisitos normais para bovinos de corte (NRC 1984). O zinco variou entre os teores mínimo e máximo de maneira quase equivalente, nas pastagens positivas e negativas para CI. Entretanto, 42,8% e 41,6% dos resultados encontrados, respectivamente para ambas as situações em questão, estão abaixo dos requisitos mínimos. O que sugere uma tendência à deficiência de zinco em alguns pastos. Na avaliação estatística entre os dois grupos (Quadro 5), a média dos teores de zinco nos pastos não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$).

Manganês. O manganês, em média, apresenta teores altos tanto nos pastos com incidência ou não da CI (Fig. 1g). A maioria dos resultados encontrados estão

Quadro 6. *Teores de microelementos em forrageiras coletadas em pastos CI-positivos nas regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil*

Amostra nº	Data	Fazenda	Pasto	Município	Estado	Incidência CI	Microelementos (ppm)					
							Cu	Mo	S	Zn	Mn	Fe
Fazendas na região de Rondonópolis												
SE-02s	27.09.75	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta[a]	MT	++[b]	4,4	2,1	0,15	25,2	503,0	104,0
SE-03s	27.09.75	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	7,2	1,4	0,25	46,4	71,5	50,7
SE-06s	29.09.75	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	4,8	2,2	0,13	40,3	87,2	86,2
SE-01v	04.02.76	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	8,0	–	0,39	10,2	146,8	66,4
SE-02v	04.02.76	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	9,6	0,26	0,38	17,1	36,8	46,0
SE-03v	04.02.76	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	2,4	0,27	0,46	14,7	90,7	44,2
SE-04v	04.02.76	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	8,4	–	0,41	20,3	51,0	64,0
SE-06v	04.02.76	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	3,9	3,10	0,20	20,8	26,2	38,1
SE-07v	30.11.77	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	5,4	2,12	0,35	20,4	53,9	84,6
SE-08v	30.11.77	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	+	10,3	3,12	0,10	19,5	100,8	53,2
4v	12.02.80	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	+	15,0	0,90	0,12	25,6	46,6	54,1
5v	12.02.80	Santa Escolástica	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	+	9,5	0,78	0,11	18,0	64,0	273,6
PC-01s	28.09.75	Paulicéia	*P. maximum*	Rondonópolis	MT	+++	3,6	0,15	0,24	38,8	522,6	90,2
PC-02s	28.09.75	Paulicéia	*P. maximum*	Rondonópolis	MT	+	12,2	–	0,23	69,3	279,4	436,7
PC-05T	30.11.77	Paulicéia	"Taboca"	Rondonópolis	MT	+++	3,2	0,15	0,44	14,0	170,5	53,5
PC-01v	05.02.76	Paulicéia	*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	6,2	–	0,32	18,0	125,8	155,5
PC-02v	05.02.76	Paulicéia	*P. maximum*	Rondonópolis	MT	++	11,4	–	0,45	23,4	231,0	91,2
2v	12.02.80	Paulicéia	*P. maximum*	Rondonópolis	MT	+	9,5	0,36	0,12	14,0	84,0	46,4
SA-01s	27.09.75	Stº Ant. do Jurigue	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	4,0	5,80	0,21	49,8	260,5	76,3
SA-01v	07.02.76	Stº Ant. do Jurigue	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	7,6	–	0,48	26,8	31,6	46,6
7v	13.02.80	Stº Ant. do Jurigue	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	+	8,9	4,0	0,18	17,7	38,2	40,2
SM-01s	30.09.75	São Manoel	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	10,2	1,0	–	35,8	195,0	136,4
SM-02s	30.09.75	São Manoel	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	13,2	–	0,15	70,3	114,0	64,5
SM-01v	08.02.76	São Manoel	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	8,9	–	0,39	14,2	83,2	21,5
SM-02v	08.02.76	São Manoel	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	11,0	–	0,52	18,3	85,6	45,1
TP-01s	01.10.75	Três Pontes	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	+	12,2	–	0,26	25,4	93,4	84,4
TP-01v	05.02.76	Três Pontes	*P. maximum*	Pedra Preta	MT	++	7,6	–	0,46	16,2	585,7	48,1
Fazendas situadas em outras regiões												
NZ-02s	05.10.75	Nova Zelândia	*P. maximum*	Ch. dos Guimarães	MT	++	2,5	–	0,22	51,2	611,1	100,1
SI-01s	08.10.75	Santo Ildefonso	*P. maximum*	Barra do Garça	MT	++	8,9	–	0,24	54,0	97,1	56,8
SI-02s	08.10.75	Santo Ildefonso	*P. maximum*	Barra do Garça	MT	++	4,5	–	0,14	36,6	267,2	118,7
TG-02s	04.10.75	Tarigara	*P. maximum*	Barão do Melgaço	MT	++	5,2	0,9	0,52	19,7	198,0	57,8
AG-02s	05.10.75	Agrosan	*P. maximum*	Diamantino	MT	+++	4,4	0,32	0,46	38,5	276,0	44,0
AG-03s	05.10.75	Agrosan	*P. maximum*	Diamantino	MT	+++	2,5	–	0,31	27,4	328,2	86,4
EG-01s	03.10.75	E. do Guaporé	*P. maximum*	Mato Grosso	MT	+++	11,7	–	0,19	56,2	319,3	81,0
EG-04s	03.10.75	E. do Guaporé	*P. maximum*	Mato Grosso	MT	+++	5,1	0,77	0,42	15,3	96,6	50,3
AP-01v	04.10.75	Aguaporé	*P. maximum*	Mato Grosso	MT	+	8,9	–	0,11	26,0	24,8	116,2
JG-01v	30.05.76	Jaraguá	*P. maximum*	Rio Branco	AC	+++	16,6	–	0,28	48,5	330,1	177,2
CV-02v	26.05.76	Cavaco	*P. maximum*	Xapuri	AC	+++	6,1	1,50	0,25	37,0	141,7	44,3
FP-03	25.05.76	Filipinas	*P. maximum*	Xapuri	AC	++	5,1	0,16	0,21	23,0	346,0	72,0
9v	09.02.80	Paiol	*B. decumbens*	Nobres	MT	+	6,4	0,33	0,07	13,7	98,3	361,4
10v	09.02.80	Paiol	*B. decumbens*	Nobres	MT	+	3,8	0,19	0,08	19,2	101,3	65,0
66v	09.04.80	Paiol	*B. ruziziensis*	Nobres	MT	+	7,1	0,16	0,14	29,9	44,2	48,1
67v	09.04.80	Paiol	*B. decumbens*	Nobres	MT	+	5,5	0,18	0,11	7,3	74,0	34,1
68v	09.04.80	Paiol	*B. decumbens*	Nobres	MT	+	3,0	0,22	0,12	8,4	119,0	67,7
70v	09.04.80	Paiol	*B. decumbens*	Nobres	MT	+	2,4	0,10	0,09	9,8	60,5	19,7
72v	09.04.80	Paiol	*B. ruziziensis*	Nobres	MT	+	5,3	0,21	0,48	1,3	57,7	68,0
33	16.08.73	S. Luiz Someco	*P. maximum*	Ivinhema	MS	+	23,2	–	–	35,0	128,7	52,7
34	16.08.73	S. Luiz Someco	*P. maximum*	Ivinhema	MS	+	32,5	–	–	35,3	176,5	256,3

[a] Anteriormente pertencente ao Município de Rondonópolis.
[b] +++ Incidência alta, ++ moderada, + pequena.

acima do requisito máximo para bovino de corte, sendo 85,4% para os pastos com incidência da CI e 85,7% nas pastagens sem incidência. Souza et al. (1983), num experimento em pastagem de capim-colonião adubada, encontraram teores de manganês que variaram de 88 ± 37 a 123 ± 25 ppm. Concentrações desta natureza não afetam a integridade nutricional de bovinos, pois estes absorvem, aproximadamente, apenas 1% do manganês de sua dieta, independentemente da concentração dietética (Sanson et al. 1976). No Quadro 5 os níveis de manganês das forrageiras também não apresentam diferenças estatisticamente significativas ($P > 0,05$) entre os dois grupos avaliados.

Ferro. Embora os requisitos de ferro para ruminantes não sejam bem estabelecidos, optou-se pela recomendação do NRC (1984), que considera o teor de 100 ppm adequados para animais jovens, e 50 ppm adequado para bovinos adultos. Os teores de ferro nas pastagens têm uma variação muito grande (Fig. 2f). Os resultados das amostras de pasto com incidência de CI apresentaram-se, em sua maioria (47,9%), dentro dos requisitos normais. Nas pastagens sem incidência de CI, 48,3% apresentam níveis mais elevados. No Quadro 5, os teores de ferro nas forrageiras não apresentam diferenças estatisticamente significativas ($P > 0,05$) entre os dois grupos.

Quadro 7. *Teores de microelementos em forrageiras coletadas em pastos CI-negativos nas regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil*

Amostra nº	Data	Fazenda	Pasto	Município	Estado	Microelementos (ppm)					
						Cu	Mo	S	Zn	Mn	Fe
Fazendas na região de Rondonópolis											
SE-02s	27.09.75	Santa Escolástica	P. maximum	Pedra Preta[a]	MT	12,1	1,0	0,25	51,4	176,4	59,4
SE-04s	27.09.75	Santa Escolástica	P. maximum	Pedra Preta	MT	13,6	0,75	0,22	52,6	103,6	54,3
SE-05s	29.09.75	Santa Escolástica	P. maximum	Pedra Preta	MT	6,6	2,6	0,24	58,2	56,2	32,8
SE-05v	04.02.76	Santa Escolástica	P. maximum	Pedra Preta	MT	7,5	–	0,16	14,5	41,0	31,0
SG-01s	01.10.75	São Gonçalo	P. maximum	Pedra Preta	MT	5,8	2,49	0,23	14,0	232,0	151,5
8v	14.02.80	São Gonçalo	P. maximum	Pedra Preta	MT	9,6	2,72	0,12	11,2	21,4	38,4
SG-01v	07.02.76	São Gonçalo	P. maximum	Pedra Preta	MT	10,8	–	0,31	30,2	83,8	147,0
SD-01s	30.09.75	São Domingos	P. maximum	Pedra Preta	MT	4,9	3,76	0,13	85,5	428,5	90,8
SD-01v	07.02.76	São Domingos	P. maximum	Pedra Preta	MT	17,1	–	0,53	28,2	153,7	168,4
6v	12.02.80	São Domingos	P. maximum	Pedra Preta	MT	16,0	0,80	0,24	20,0	109,8	111,3
MA-01s	01.10.75	Mata Alta	P. maximum	Pedra Preta	MT	5,6	3,70	0,16	38,3	242,1	134,8
MA-01v	07.02.76	Mata Alta	P. maximum	Pedra Preta	MT	10,0	–	0,49	21,3	27,0	33,9
3v	14.02.80	Mata Alta	P. maximum	Pedra Preta	MT	13,9	3,55	0,50	23,3	88,7	277,3
PT-01s	28.09.75	Palmital	P. maximum	Rondonópolis	MT	4,5	6,0	0,41	17,0	56,4	507,9
PT-01v	05.02.76	Palmital	P. maximum	Rondonópolis	MT	10,8	–	0,24	34,3	29,0	42,0
Fazendas situadas em outras regiões											
CV-01	26.05.76	Filipinas	Gramado	Xapuri	AC	11,8	0,60	–	111,0	530,8	360,5
FP-02	25.05.76	Filipinas	Gramado	Xapuri	AC	5,9	0,93	0,53	25,2	351,2	235,0
FP-01	25.05.76	Filipinas	H. rufa	Xapuri	AC	2,9	7,57	0,20	47,0	117,5	30,7
DA-01s	08.10.75	Duas Âncoras	P. maximum	Barra do Garça	MT	2,4	0,75	0,18	21,6	400,0	71,6
DA-02s	08.10.75	Duas Âncoras	P. maximum	Barra do Garça	MT	5,7	1,76	0,43	11,0	293,8	80,0
EM-01s	10.10.75	Esmeralda	P. maximum	Corumbá	MS	5,0	0,94	0,24	44,1	592,2	33,8
11v	10.02.80	Umuarama	B. decumbens	Paranatinga	MT	4,2	2,1	0,10	12,7	80,5	216,0
13v	07.02.80	Itaúna	P. maximum	Nobres	MT	8,6	4,0	0,18	16,0	55,1	51,0
65v	09.04.80	Paiol	B. decumbens	Nobres	MT	4,1	0,15	0,10	8,5	195,0	840,0
69v	09.04.80	Paiol	Cerrado	Nobres	MT	2,9	0,10	0,27	6,3	71,0	70,7
71v	09.04.80	Paiol	P. maximum	Nobres	MT	4,6	0,28	0,40	15,5	51,7	49,1
36	10.10.74	Triunfo	Cultura mista	Itiquira	MT	8,3	–	0,49	17,0	95,8	112,4
37	10.10.74	Triunfo	H. rufa	Itiquira	MT	6,1	–	–	13,8	97,2	58,3

[a] Anteriormente pertencente ao Município de Rondonópolis.

CONCLUSÕES

Com base nestes dados, pode-se concluir que:

1. Existe uma deficiência de cobre para bovinos criados a pasto, nas regiões de terras férteis, como no vale do Jurigue na região de Rondonópolis, Mato Grosso. Ela é induzida pela provável interação entre Cu-Mo-S, predominando, no caso, a ação de altas concentrações de enxofre.

2. Bovinos com CI apresentaram teores elevados de zinco no fígado, que pode estar relacionado com uma maior concentração de metalotionina neste órgão, induzida pelo próprio processo patológico no animal, não sendo portanto resultado de desequilíbrio com outros microelementos minerais.

3. Dentro dos vários aspectos que até então vêm sendo estudados, estes resultados corroboram com o fato de que a CI dos bovinos não é conseqüência de deficiência ou de excesso dos microelementos estudados.

Agradecimentos.- Os autores agradecem ao Professor Adilson J. Curtius, Departamento de Química Analítica da PUC-RJ, a orientação e utilização do espectrofotômetro de absorção atômica e do forno de grafite para a dosagem dos microelementos; agradecem também aos colegas Dr. Rafael Geraldo O. Alves e Dr. João Batista Esmela Curvo o apoio dado.

REFERÊNCIAS

AOAC 1975. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12th ed. Washington, DC, p. 43. 1984.

ARC 1980. The Nutrient Requirement of Ruminant Livestock. Technical Review by an Agricultural Research Council Working Party. Agricultural Research Council by the Commonwealth Agricultural Bureaux, part 2, p. 228-229.

Camargo W.V.A. & Nazário W. 1974. Distrofia do osso maxilar (cara inchada) em bovinos do Estado de Mato Grosso (Resumo da Reunião Anual Soc. Bras. Progresso da Ciência, Recife). Ciência e Cultura, S. Paulo, 26 (supl.), p. 491.

Camargo W.V.A., Fernandes N.S. & Santiago A.M.H. 1981a. Contribuição ao estudo da "cara inchada" em bovinos. Biológico, S. Paulo, 47(6):183-185.

Camargo W.V.A., Veiga J.S. & Conrad J.H. 1981b. Cu, Mo, S, Zn and periodontitis in Brazilian cattle, p. 47-49. In: MacDowell J., Gawthorner J.M. & White C.L. (ed.) Trace Element Metabolism in Man and Animals – 4. Australian Academy of Science, Canberra.

Castro A.C.J. & Döbereiner J. 1978. Dados não publicados (Depto Geoquímica, Inst. Geociências, Univ. Fed. Rio de Janeiro).

Cousins R.J. 1979. Regulatory aspects of zinc metabolism in liver and intestine. Nutr. Rev. 37(4):97-103.

DiSilvestro R.A. & Cousins R.J. 1984. Mediation of endotoxin-induced change in zinc metabolism in rats. Am. J. Physiol. 247:436-441.

Döbereiner J., Chaves J.A., Rosa I.V. & Houser R.H. 1975. Efeito da transferência de bovinos com "cara inchada" (doença peridentária) para pastos de região indene. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 10:99-103.

Döbereiner J., Inada T. & Tokarnia C.H. 1974. "Cara inchada", doença peridentária em bovinos. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 9:63-85.

Döbereiner J. Rosa I.V. & Lazzari A.A. 1976. "Cara inchada" (doença peridentária) em bezerros mantidos em pastos de *Panicum maximum*. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 11:43-47.

Döbereiner J., Schenk J.A.P. & Briso J.L. 1978. Experimento com bezerros afetados pela "cara inchada" (doença peridentária) em pasto formado sem emprego do fogo. XVI Congr. Bras. Med. Vet., Salvador, 22-27 out. (Resumo)

Fabiani F., Bayer L.C.G., Veiga J.S., Oliveira J.O., Fernandes N.S., Camargo W.V.A. & Santiago A.M.H. 1980. Contribuição ao estudo da "cara inchada" em bovinos. Revista dos Criadores, out.: 80-81. (Separata sob a forma de Noticiário Tortuga, S. Paulo, Ano 26, nº 303)

McDowell L.R., Conrad J.M., Ellis G.L. & Loosli J.K. 1984. Minerales para Ruminantes en Pastoreo en Regiones Tropicales, p. 58. In: La Agricu ture de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional. Depto Ciência Animal, Centro de Agricultura Tropical, Univ. Florida, Gainesville.

McNaught K.J. 1948. Cobalt, copper and iron in the liver in relation to cobalt deficiency ailment. N.Z.J. Sci. Technol., Sect. A, 30(1):26-43.

Nazário W. 1984. Prevenção da "cara inchada" pelo uso de suplemento mineral adequado a certas épocas do ano. Revta Bras. Med. Vet. 6(2):33-38.

NRC 1984. Nutrient Requirements of Domestic Animals. 4. Nutrient Requirements of Beef Cattle. Ed. National Academy of Sciences, National Research Council, Washington, DC.

Nunes V.A., Viana, J.A.C., Nunes I.J., Carvalho A.U., Santos B.M., Ribeiro H.M. & Teixeira T. 1979. Doença periodontal (cara inchada) em bovinos do Estado de Goiás. I. Aspectos morfológicos. Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 31(3):283-296.

Price J. & Chesters J.K. 1985. A new bioassay for assessment of copper availability and its application in a study of the effect of molybdenum on the distribution of available Cu in ruminant digesta. Brit. J. Nutr. 53:323-336.

Rosa I.V., Carvalho J.C., Houser R.H. & Döbereiner J. 1976. Influência de ração balanceada sobre a "cara inchada" (doença peridentária) de bezerros. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 11:59-63.

Sanson B.F., Gibbons R.A., Dixon S.N., Russel A.M. & Symonds H.W. 1976. Absorption of dietary manganese by dairy cows and the role of plasma proteins and the liver in its homeostasis. Nuclear Tech. in Anim. Production and Health, IAEA SM 205/102, Vienna.

Sas B. 1989. Secondary copper deficiency in cattle caused by molybdenum contamination of fodder: A case history. Vet. Hum. Toxicol. 31(1):29-33.

Sousa J.C., Gomes R.F.C., Viana, J.A.C., Nunes V.A., Schenk J.A.P., Rosa I.V. & Guimarães E.D. 1986. Suplemento mineral em bovinos com doença periodontal (cara inchada). I. Aspectos nutricionais. Revta Soc. Bras. Zootec. 15(1):1-16. (Separata)

Suttle N.F. 1974. A technique for measuring the biological availability of copper to sheep, using hypocupraemic ewes. Brit. J. Nutr. 32:395-405.

Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Moraes S.S. 1988. Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 8(1/2):1-16.

Tokarnia C.H., Mitidieri E. & Affonso O.R. 1959. Dados analíticos sobre valores de cobre e ferro encontrados em fígado de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil. Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de J., 2:33-37.

Tristão M.L.B. & Moraes S.S. 1984. Determinação de traços de cobalto em fígado de bovino por espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite. 1º Encontro Nacional de Química Analítica, PUC, Rio de Janeiro, RJ, p. 59.

Underwood E.J. 1977. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 4th ed. Academic Press, New York.

GASTROPATIA EM COELHOS EXPERIMENTALMENTE INDUZIDA PELA PLANTA CALCINOGÊNICA *Solanum malacoxylon*[1]

JOSÉ ANTONIO MORAÑA[2], SEVERO SALES DE BARROS[3], DAVID DRIEMEIER[4] e YARA ETHUR FLÔRES[5]

ABSTRACT.- Moraña J.A., Barros S.S., Driemeier D. & Flôres Y.E. 1994. [**Gastropathy in rabbits experimentally induced by the calcinogenic plant Solanum malacoxylon.**] Gastropatia em coelhos experimentalmente induzida pela planta calcinogênica Solanum malacoxylon. *Pesquisa Veterinária Brasileira 14(1):35–42*. Depto Patologia, Univ. Fed. Sta Maria, Santa Maria, RS 97119-900, Brazil.

Rabbits of both sexes were dosed daily either orally or intravenously with an aqueous extract of *Solanum malacoxylon* equivalent to 100 mg of the dried leaves of the plant per kilogram of body weight. The rabbits developed a gastropathy associated with loss of appetite, depression and diarrhea. All rabbits were necropsied within 14 days after treatment. Gross lesions consisted of hyperemia and edema of the mucosa with occasional hemorrhages and necrotic foci in the fundus region of the stomach; white streaks could be observed through its serosal surface. Slicing of these areas revealed hard, granular and dry mineral deposits. The main microscopic lesions consisted of marked mineralization of the muscle layers of the stomach and arterial walls, edema of the lamina propria and submucosa and hemorrhages in the mucosa. Numerous multinucleated giant cells were observed in the gastric mucosa, some of which containing mineral deposits in their cytoplasm. Early changes were observed by electron microscopical examination in the smooth muscle cells of the muscle layers, muscularis mucosae and lamina propria of the stomach and of the arterial walls. The morphological changes in the smooth muscle cells could possibly result as an expression of genes activated by 1,25 $(OH)2D_3$ contained in the plant. In the more advanced stages these modified muscle cells suffered degeneration, necrosis and mineralization. In the extracellular matrix calcium cristals were observed associated with membrane-bound cellular fragments which varied in size from 200nm to 1 μm. These were interpreted as matrix vesicles. The multinucleated giant cells contained needle-like mineral deposits resembling apatite cristals which were found loose in their cytoplasm as endocellular products. Rarely these deposits were membrane-bound. Affected mitochondria had granular mineral precipitations on the cristae which suggests this organelle as the initial site of calcium precipitation in the giant cells. This type of giant cells was also observed in the mucosa of the stomachs which showed no calcification.

INDEX TERMS: Plant poisoning, *Solanum malaxoxylon*, gastropathy, rabbit.

SINOPSE.- Trinta coelhos jovens de ambos os sexos foram dosificados por via oral ou por via endovenosa com extrato aquoso de *Solanum malacoxylon* equivalente a 100 mg de folhas dessecadas por kg de peso vivo. Os animais desenvolveram uma gastropatia com sintomas de anorexia, depressão e diarréia; todos os animais, mortos espontaneamente ou sacrificados, foram necropsiados em um período de até 14 dias após a administração do extrato. Foram feitos estudos de microscopia ótica e eletrônica de transmissão em espécimes do estômago. As lesões macroscópicas observadas nos animais intoxicados consistiram em hiperemia e edema da mucosa gástrica, ocasionais áreas de necrose na mucosa fúndica e estriações esbranquiçadas nas capas musculares, visíveis através da serosa. O corte sobre estas áreas revelou depósitos minerais de aspecto granular, secos e de consistência dura.

As principais lesões microscópicas consistiram de uma marcada mineralização das camadas musculares do estômago e das paredes arteriais, edema da lâmina própria, particularmente da zona foveolar e da submucosa e hemorragias capilares na mucosa. Um grande número de células gigantes multinucleadas foram observadas na mucosa, algumas das quais continham minerais no seu citoplasma. As alterações ultraestruturais apareceram precocemente nas células musculares lisas e se caracterizaram por dilatação do retículo endoplasmático, aumento do número de mitocôndrias, diminuição das vesículas pinocitóticas das miofibrilas e

1 Aceito para publicação em 6 de dezembro de 1993.
Este trabalho é parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor, apresentado ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, Brasil.

2 Faculdade de Veterinária, Universidad de la República, Montevideo, Uruguai.
3 Bolsista pesquisador do CNPq, Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97119-900 Santa Maria, RS.
4 Doutorando no Instituto de Patologia da Faculdade de Veterinária, Justus Liebig-Universitaet, Giessen, República Federal da Alemanha.
5 Bióloga, Departamento de Patologia, UFSM.

densificações citoplasmáticas. Estas alterações morfológicas poderiam ser o resultado da expressão de gens ativados pelo $1.25(OH)2D_3$ contido na planta. Na matriz extracelular foram observados cristais de cálcio associados a fragmentos celulares recobertos por membranas de tamanhos variáveis – entre 200 nanômetros e um micrômetro, interpretadas como vesículas matriciais. As células gigantes presentes em abundância na lâmina própria exibiam depósitos minerais em forma de agulhas, em alguns casos rodeados por membranas e, em outros, no interior do citoplasma como um produto endocelular. As mitocôndrias afetadas apresentavam depósitos minerais de aspecto granular sobre as cristas. Este tipo celular também foi observado na mucosa de estômagos que até o momento não tinham sofrido o processo de calcificação.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Intoxicação por planta, *Solanum malacoxylon*, gastropatia, coelho.

INTRODUÇÃO

Em diversas partes do mundo têm sido descritas calcinoses sistêmicas em animais de pastoreio, doenças de evolução crônica, caracterizadas pela deposição de sais de cálcio nos tecidos moles. O desenvolvimento destas calcinoses foi relacionado com a ingestão de diversas plantas pelos herbívoros (Collier 1927, Worker & Carrillo 1967, Carrillo et al. 1971, Döbereiner et al. 1971, Dirksen et al. 1970, Krook et al. 1975, Wasserman et al. 1975, Morris 1982, Riet-Correa et al. 1987).

A toxicidade destas plantas está associada a um glicosídio do 1,25-dihidroxicolecalciferol ($1,25(OH)2D_3$) e é semelhante à da vitamina D (Wasserman 1975, Wasserman et al. 1975, 1976). Os animais intoxicados mostram calcificação que envolve as fibras elásticas da parede das artérias, o rim, o coração, o pulmão e outros tecidos (Worker & Carrillo 1967, Camberos et al. 1970, Castro 1970, Barros et al. 1970, Carrillo et al. 1971, Döbereiner et al. 1975, Done et al. 1976, Noseda et al. 1976, Barros et al. 1981).

Nos animais afetados por calcinose são descritos sinais clínicos de doença gastrintestinal como perda e depravação do apetite e em alguns casos diarréia (Arnold 1954, Worker & Carrillo 1967, Camberos et al. 1970, Done et al. 1976, Noseda et al. 1976), mas somente alguns autores descrevem lesões em órgãos do sistema digestivo (Arnold & Bras 1956, Rossi et al. 1969, Barros et al. 1970). Em coelhos intoxicados experimentalmente por *Solanum malcoxylon* foram observadas anorexia, diarréia e morte (Barros 1990, dados não publicados).

Neste trabalho são descritas as alterações do estômago induzidas pela intoxicação experimental com *Solanum malacoxylon* em coelhos, através do estudo macroscópico, microscópico e ultraestrutural e discutidos os mecanismos patogenéticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais de experimentação

Foram utilizados trinta e dois coelhos jovens de ambos os sexos, com pesos variando entre 700 e 2000 g e idades entre 45 e 102 dias; os animais eram alojados em gaiolas metálicas e recebiam ração granulada para coelhos[6] e água *ad libitum*.

Vinte e três coelhos receberam diariamente extrato aquoso de *Solanum malacoxylon* (SM) correspondente a 100 mg de folhas secas por quilograma de peso corporal, via sonda gástrica. Sete coelhos receberam a mesma dosagem do extrato, previamente esterilizado por filtração, via endovenosa. Dois coelhos não receberam o extrato e foram mantidos como testemunhas. Os animais foram controlados durante todo o experimento. Os que morreram espontaneamente e aqueles sacrificados *in extremis* foram necropsiados. Os sobreviventes e os testemunhas foram sacrificados por exangüinação e necropsiados no 14º dia após o início do experimento, após prévia narcose por éter.

Colheita e processamento das amostras

De todos os animais foram colhidas amostras do estômago para microscopia ótica e, de alguns casos selecionados, para microscopia eletrônica. As amostras para microscopia ótica foram obtidas após prévia ligadura do esôfago e do duodeno e injeção de formalina a 10% na luz do órgão até se conseguir sua distenção. A seguir os estômagos foram imersos em recipiente com formalina a 10%. Nos estômagos, dos quais se retiraram amostras para microscopia eletrônica, as incisões realizadas foram suturadas para depois se proceder de forma semelhante à relatada anteriormente. Após a fixação, fragmentos do cárdia, corpo e piloro foram processados para histologia, incluídos em parafina, cortados a 5 micrômetros e corados pela técnica da hematoxilina e eosina. Cortes selecionados foram corados pela técnica de von Kossa, azul de toluidina e Grimelius (Culling et al. 1985).

As amostras para microscopia eletrônica foram retiradas da curvatura, região fúndica, de 5 animais, sendo um testemunha. Os fragmentos foram fixados em glutaraldeido a 2,5% em tampão de cacodilato, a 4°C, por 2h, pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% em tampão de cacodilato de sódio, por uma hora, a 4°C, desidratados em etanóis e incluídos em Epon. Cortes semifinos foram corados com azul de metileno e os ultrafinos foram contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo e examinados em microscópio eletrônico de transmissão.

Extrato da planta

O extrato de SM foi preparado colocando-se folhas dessecadas à sombra em água destilada, na proporção de 28,8 g de folhas secas moídas, em 576 ml de água destilada, no refrigerador a 4°C. Após 24 h a suspensão foi filtrada em gaze e conservada no refrigerador. Parte do extrato foi esterilizado por filtração para utilização endovenosa.

RESULTADOS

Sintomatologia

A anorexia foi o primeiro sintoma observado, tanto nos coelhos dosificados por via oral quanto naqueles que receberam o extrato via endovenosa. Os animais mostraram diminuição do apetite, dentro das primeiras 24h após o início do experimento. Entre 48 e 72 horas, a grande maioria dos animais apresentou diarréia, encontrando-se matérias fecais pastosas e muco, às vezes coagulado na forma de cilindros.

6 Ração Guabi para coelhos.

Tanto machos como fêmeas foram afetados, porém houve considerável variação individual. Dez animais morreram entre 72 e 96 horas após a primeira dosificação. Os outros animais reduziram notavelmente o consumo de alimentos e água, mas houve uma posterior recuperação do apetite, o qual se manteve sempre em níveis muito inferiores ao normal e alternando-se com períodos de anorexia. Todos os sobreviventes desenvolveram debilidade e se mostraram apáticos. Progressivamente os animais foram se recuperando, sem, porém, atingirem o estado normal. Em alguns deles, uma vez desaparecida a diarréia, houve constipação com matérias fecais pequenas, escuras, secas e duras. Observou-se ainda um atraso no crescimento dos animais dosificados em relação aos testemunhas. Oito animais com cerca de 45 dias não evidenciaram outras alterações além de uma discreta diminuição do apetite e atraso do crescimento.

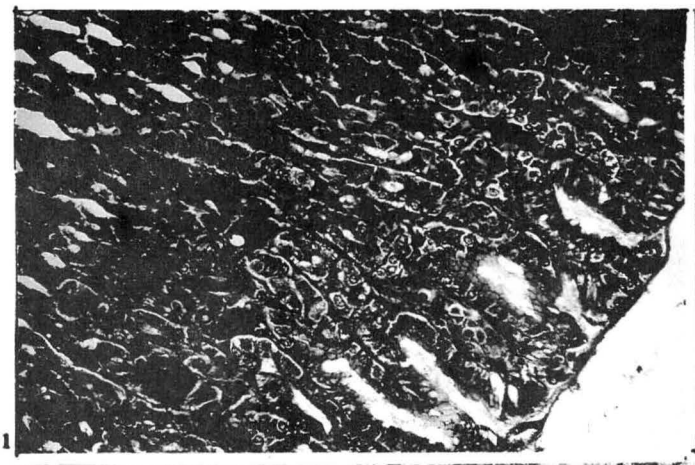
Alterações macroscópicas

Dez animais com sinais clínicos de doença, não apresentaram lesões do estômago à inspeção pós-morte. Nos demais foram observadas, na superfície serosa do estômago, estriações esbranquiçadas, lineares, dispondo-se de forma radiada e perpendicular à grande curvatura. O corte sobre as áreas que apresentavam as estriações esbranquiçadas revelou, nas capas musculares, depósitos minerais de aspecto granular e seco, de cor branca e consistência dura. O estômago mostrou avermelhamento, focal ou difuso, da superfície mucosa e espessamento da parede. De um modo geral, as porções fúndicas e o corpo foram as mais afetadas. Observou-se também aumento da secreção mucosa, a qual, em alguns casos, foi de volume apreciável e em outros encontrava-se misturada com sangue.

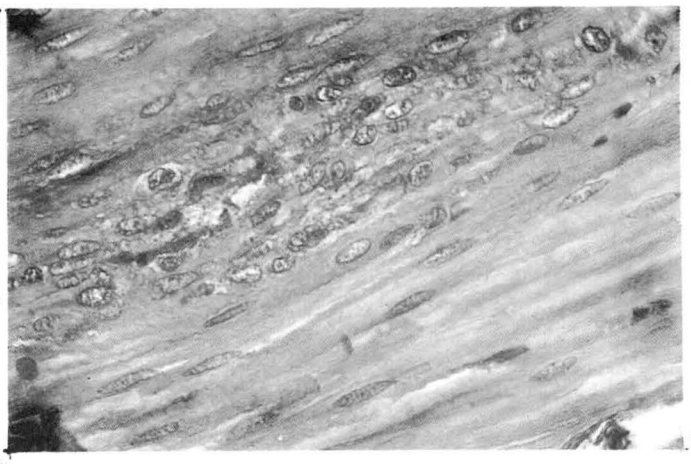
A presença de edema entre a mucosa e as camadas musculares foi a causa do espessamento da parede do estômago.

Alterações microscópicas

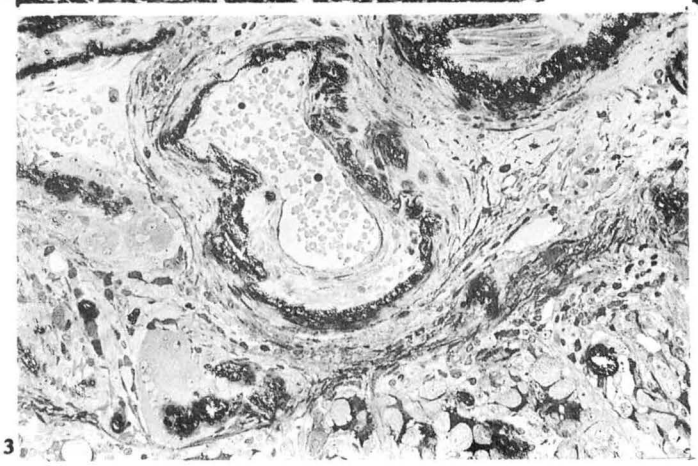
As lesões microscópicas encontradas no estômago afetavam a mucosa, a lâmina própria, a muscular e as artérias da submucosa e da muscular. A mucosa gástrica estava lesada em diferentes graus de acordo com o indivíduo e a zona do estômago. A zona do corpo mostrou as alterações mais severas. Em geral as lesões da mucosa foram observadas no seu terço mais superficial, mas as glândulas conservaram seu aspecto normal. Havia edema localizado na região foveolar. As células de revestimento adquiriram aspecto irregular com citoplasma vacuolizado. Em nove animais foram vistas, na mucosa, hemorragias capilares de distribuição focal. Em quatro deles havia hemorragias maiores e as capas superficiais da mucosa



1



2



3

Fig. 1. *Mucosa do estômago. Algumas células gigantes são observadas no interstício. Não há sinais de mineralização. HE, obj. 6,3.*

Fig. 2. *Muscular do estômago. Alterações precoces no processo de mineralização das camadas musculares. Observam-se grupos de miócitos com núcleos tumefeitos, fina vacuolização do citoplasma e discreta basofilia. HE, obj. 16.*

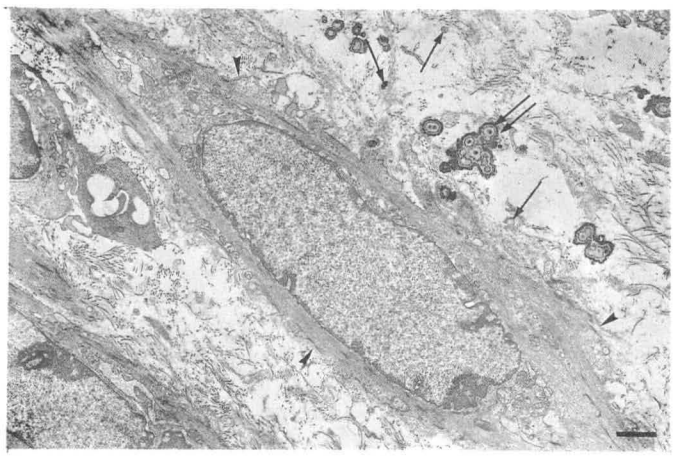
Fig. 3. *Espessamento da íntima e calcificação da parede de artéria da submucosa do estômago. Células gigantes com mineralização no citoplasma podem ser observadas no interstício. Epon, Azul de metileno, obj. 16.*

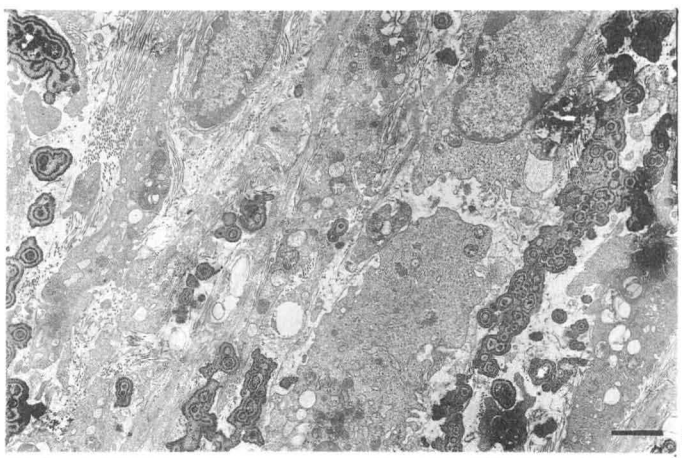
sofreram diversos graus de erosão. Estas erosões por vezes atingiam a muscular da mucosa, induzindo sempre uma reação inflamatória discreta.

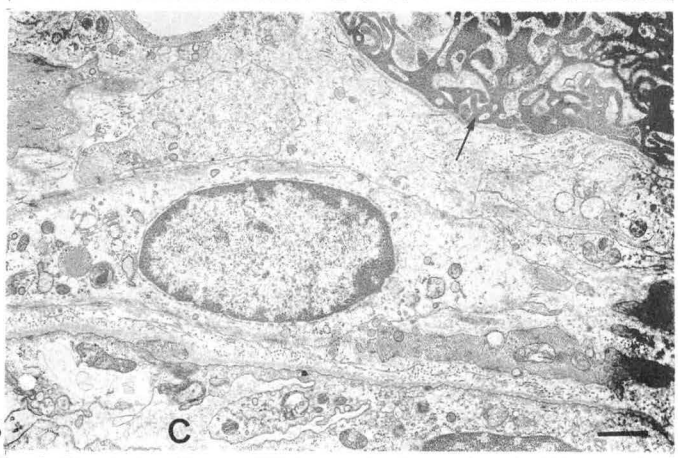
Em alguns casos foram observadas colônias bacterianas, acompanhadas por infiltrados polimorfonucleares com uma maior esfoliação e necrose do epitélio de revestimento. Nestes casos evidenciava-se congestão mais acentuada, hemorragias e espessamento difuso da submucosa por edema. A topografia superficial foi mantida, interessando a mucosa em toda sua extensão, sem ultrapassar a muscular da mucosa. Foi usada a coloração do azul de toluidina em todos os casos que apresentaram marcado engrossamento da lâmina própria por edema, sem, porém, ter sido detectada mastocitose.

Pequenos depósitos focais de uma substância basofílica positiva à coloração de von Kossa foram vistos entre as células epiteliais, na luz das glândulas e no tecido conjuntivo interglandular da região fúndica. Tais depósitos foram detectados também no citoplasma de células gigantes tipo corpo estranho, encontradas na mucosa. Este tipo celular era numeroso naqueles animais que receberam dosagens de SM por períodos superiores aos 8 dias, inclusive na mucosa de estômagos que não apresentavam depósitos minerais (Fig. 1). Células gigantes sem depósitos minerais no seu interior também foram encontradas com freqüência. Na muscular, sobretudo na proximidade de vasos, também foram vistos depósitos de minerais junto a células musculares de núcleos tumefeitos e citoplasma vacuolizado. Em algumas ocasiões estes depósitos foram observados como granulações intracitoplasmáticas positivas à coloração de von Kossa.

As camadas musculares foram as mais afetadas, havendo uma ligeira basofilia associada à tumefação celular (Fig. 2), até uma intensa deposição de material forte-







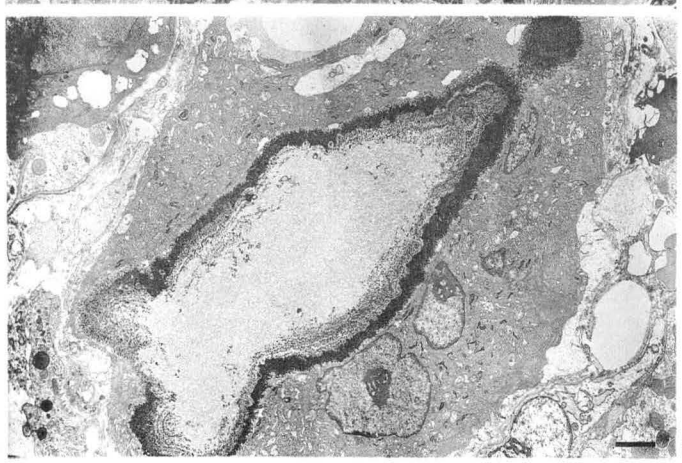


Fig. 4. ***Parede do estômago. Célula muscular lisa modificada. Dilatação do retículo endoplasmático e aumento do número de organelas. Fragmentação da lâmina basal (ponta de seta). Diminuição acentuada do número de vesículas de pinocitose. No interstício observam-se estruturas citoplasmáticas delimitadas por membrana e interpretadas como vesículas matriciais (seta). Deposição de cálcio na matrix extracelular em arranjos laminares concêntricos de faixas claras e escuras (dupla seta). Barra 1 μm.***

Fig. 5. *Extensas áreas de mineralização entre células musculares lisas modificadas da parede do estômago. As áreas mineralizadas mostram um aspecto laminar concêntrico formando placas por coalescência. Barra 2 μm.*

Fig. 6. *Célula muscular lisa degenerada na lâmina própria da mucosa do estômago. Capilar (C). Célula principal de glândula gástrica (seta). Barra 1 μm.*

Fig. 7. *Célula gigante na lâmina própria da mucosa do estômago. Grande estrutura mineralizada no citoplasma. Barra 2 μm.*

mente basofílico positivo à coloração de von Kossa. Estes depósitos, em alguns casos, se encontravam entre as fibras musculares lisas formando uma imagem reticulada. As fibras entre tais depósitos minerais freqüentemente estavam fragmentadas e separadas, podendo, contudo, ser identificado o seu contorno. A reação inflamatória que acompanhava estes depósitos era variável, sendo, em geral, escassa e consistindo basicamente de macrófagos. As três capas principais que compõem a muscular encontravam-se afetadas com a mesma intensidade. A distribuição das lesões nas capas musculares era variável, desde pequenos focos até a sua substituição, em certa extensão, por depósitos minerais colocados em lâminas que se assemelhavam às fibras musculares pré-existentes. As células musculares lisas apareciam hipertróficas, vacuolizadas, carregadas de depósitos granulares positivos à coloração de von Kossa e com o núcleo aumentado de tamanho. Embora não com tanta freqüencia como na mucosa, também foram encontradas células gigantes entre as fibras musculares lisas.

As lesões vasculares foram observadas nas artérias da lâmina própria, da submucosa e da muscular e consistiam desde perda das ondulações da lâmina elástica até a deposição de um material basofílico que interessava parcial ou totalmente a média do vaso. Estas alterações não foram observadas uniformemente em todos os vasos. Os depósitos eram constituídos de agregados basofílicos positivos à coloração de von Kossa, cristalinos e granulares, em geral orientados longitudinalmente entre as fibras elásticas. Proliferação da íntima e edema sub-endotelial foram observados com freqüência (Fig. 3).

Todas essas alterações diminuíam de intensidade à medida que se reduzia o lúmen dos vasos; os capilares não apresentavam alterações dignas de nota.

Os cortes histológicos corados pela técnica de Grimelius não mostraram alterações no número das células entero-endócrinas quando comparados com os dos testemunhas.

Alterações ultraestruturais

Nas capas musculares do estômago verificou-se, precocemente, tumefação das células musculares lisas, com dilatação do retículo endoplasmático e aumento do número de organelas. Em geral havia uma acentuada diminuição das miofibrilas e condensações citoplasmáticas. A lâmina basal estava fragmentada e por vezes, ausente (Fig. 4). As vesiculas de pinocitose estavam diminuídas em número. Mergulhados na matriz extracelular, mas próximas a estas células modificadas, encontravam-se fragmentos citoplasmáticos delimitados por membrana, de tamanhos variáveis entre 200 nanômetros e um micrômetro. As referidas estruturas sofreram mineralização e foram interpretadas como vesiculas matriciais. Estas mineralizações apareciam como estruturas de forma concêntrica de faixas claras e escuras que, por coalescência, formavam grandes placas que lembravam o aspecto de um mapa geográfico (Fig. 5). Em fases mais avançadas ocorria necrose e mineralização dos miócitos, dando lugar a extensas massas calcáreas. Desde as fases bem precoces, estas áreas de mineralização eram infiltradas por macrófagos, eventualmente havendo formação de células gigantes tipo corpo estranho.

A muscular da mucosa apresentou alteraçõs semelhantes às das capas musculares. As artérias muitas vezes mostravam tumefação do endotélio e um maior ou menor grau de edema da íntima. Com freqüência a lâmina elástica interna perdia sua natural ondulação, exibindo, na periferia, deposição de cálcio em formações concêntricas semelhantes às descritas nas capas musculares. Os miócitos da parede arterial também mostravam alterações similares àquelas já descritas nas células da parede muscular.

Na lâmina própria, as alterações ultraestruturais mais evidentes foram degeneração e necrose das células musculares (Fig. 6). O edema, em particular da região foveolar, era abundante e o interstício estava preenchido por uma substância granular mais eletrodensa.

As células mucosas de revestimento exibiam acentuada dilatação do retículo endoplasmático e, em alguns casos, um número considerável de corpos residuais, alguns de grande tamanho, no interior dos quais se encontravam grânulos de secreção e restos de organelas. As células gigantes, presentes em abundância na lâmina própria, apresentavam núcleos lobulados e membrana plasmática com numerosas ondulações formadas por projeções citoplasmáticas que se imbricavam umas com as outras. Estas células, ocasionalmente, continham depósitos minerais, formando estruturas concêntricas não delimitadas por membrana, de formas variadas e constituídas por cristais acidulares, em geral dispostos de forma radiada, que alcançavam até 28μm no eixo maior e aparentemente não produziam grave dano celular (Fig. 7). Algumas células gigantes apresentavam mitocôndrias com cristas desorientadas e fragmentadas e depósitos de estrutura granular densa (Fig. 8); em outras podiam ser encontrados cristais

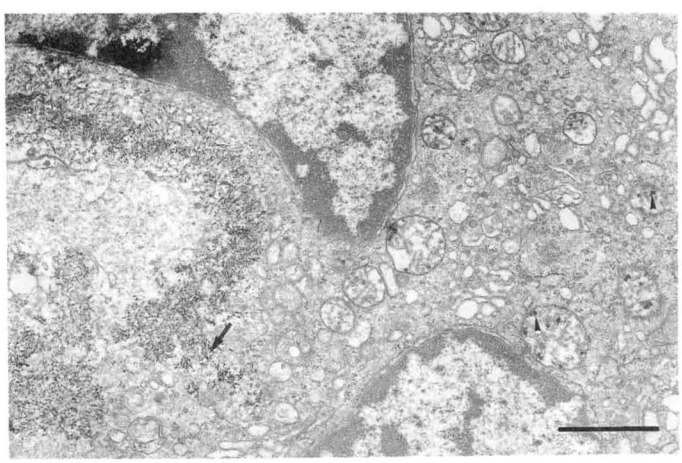


Fig. 8. *Eventos iniciais da deposição de cálcio no citoplasma de célula gigante na lâmina própria da mucosa gástrica. Grânulos eletrodensos nas cristas das mitocôndrias (ponta de seta). Formação de finos cristais de apatita no citosol (seta). Barra 2 μm.*

de sais de cálcio rodeados por membranas, aparentemente não relacionados com organelas.

As células entero-endócrinas não mostravam alterações quando comparadas com aquelas dos animais testemunhas.

Não foram observadas diferenças significativas, tanto sob o ponto de vista clínico, como das alterações macroscópicas e histopatológicas, entre os animais que receberam o extrato via sonda gástrica e via endovenosa. Digno de nota é o fato de que os 8 animais com cerca de 45 dias não exibiram alterações macroscópicas ou histopatológicas.

DISCUSSÃO

A administração de 2 ml/kg/dia de um extrato aquoso de SM, correspondente a 100 mg da planta seca, causou, com rapidez, sinais clínicos de intoxicação e um grau variável de gastropatia em todos os coelhos com exceção dos 8 animais com 45 dias de idade. Os sinais clínicos apareceram a partir das 24 horas e as mortes ocorreram entre as 72 e 96 horas após a primeira dosificação. Foi observado um atraso no crescimento dos animais intoxicados com SM, já descritos em aves (Ross et al. 1971), bovinos (Döbereiner et al. 1975) e suínos (Done et al. 1976). Os sinais de intoxicação eram bastante regulares e incluíam perda de apetite, redução do peso corporal, diarréia e eventualmente morte. Com exceção da diarréia, estes sinais foram descritos para bovinos (Worker & Carrillo 1967, Carrillo et al. 1971, Döbereiner et al. 1971, Riet-Correa et al. 1975) e para cobaias (Camberos et al. 1970) intoxicados por SM. Esses mesmos sintomas também são reportados com freqüência em casos de intoxicação por vitamina D (Stevenson et al. 1976, Chineme et al. 1976, Hascheck et al. 1978, Harrington & Page 1983, Gunther et al. 1988, Moore et al. 1988).

A diarréia tem sido descrita, mas não relacionada com as manifestações da intoxicação por outras plantas calcinogênicas como *Trisetum flavescens* (Dirksen et al. 1970, 1973) e *Nierembergia veitchii* (Riet-Correa et al. 1981). Lignières et al. (1912) ao descreverem a intoxicação espontânea por SM em bezerros, mencionam a ocorrência de uma enterite crônica, porém, Döbereiner et al. (1971) afirmam não ter visto sinais de diarréia. No presente estudo houve uma relação entre a ingestão do extrato aquoso de SM e a diarréia.

Calcificações no estômago foram descritas por Rossi et al. (1969) em coelhos dosificados com extrato aquoso de SM. Arnold & Bras (1956) descreveram o achado de depósitos calcáreos no abomaso e mesentério de animais afetados pela doença de Manchester e Barros et al. (1970) encontraram calcificações na muscular do omaso em ovinos afetados de calcinose enzoótica; estas lesões são semelhantes às descritas neste estudo.

Ao exame histológico do estômago, as porções mais afetadas foram as camadas musculares que mostravam alterações nos miócitos, microscópica e ultraestruturalmente, semelhantes às observadas nas células musculares lisas da parede da aorta em coelhos intoxicados com SM (Rossi et al. 1969, Barros et al. 1981).

Tendo-se em conta que o princípio calcinogênico do SM é o 1,25(OH)2 D_3 (Wasserman et al. 1976) e que foram detectados receptores específicos para tal esteróide nas células musculares lisas da parede da aorta (Merke et al. 1987, Koh et al. 1988), sugere-se que as células musculares lisas do estômago devem possuir receptores semelhantes. Suportam esta teoria os achados de mineralizações no trato digestivo, em casos de intoxicação por vitamina D, em várias espécies, como as que ocorrem no abomaso de bovinos (Capen et al. 1966), na camada muscular e mucosa gástrica de coelhos (Stevenson et al. 1976), na mucosa gástrica de cavalos (Harrington & Page 1983) e no estômago de cães (Gunther et al. 1988). Dentro dessa linha de raciocínio, o princípio tóxico de SM, penetraria a membrana da célula muscular lisa do estômago e se combinaria com receptores específicos. Alguns dos complexos assim formados influenciariam a síntese protéica ao nível nuclear, ativando seqüências genéticas particulares e controlando os processos metabólicos celulares. Desta maneira, seriam afetadas a proliferação e a diferenciação celulares, eventos demonstrados *in vitro* para as células musculares lisas da aorta expostas ao 1,25(OH)2D_3 (Koh et al. 1988).

A variação na intensidade das alterações celulares e das calcificações pode ser devida ao fato de que os níveis do receptor podem influenciar a resposta celular ao 1,25(OH)2D_3 ou porque a quantidade do receptor contido numa determinada célula pode variar (Chen et al. 1982). É provável que ocorra uma regulação biológica dos receptores do 1,25(OH)2D_3 nos coelhos, igual à descrita para os ratos lactantes por Halloran & De Luca (1984), pois os animais jovens (45 dias de idade) deste experimento não apresentaram alterações.

A fusão de macrófagos para formar células gigantes multinucleadas poderia ser interpretada como uma resposta às calcificações extracelulares nas camadas musculares. Células gigantes similares foram observadas em casos de intoxicação por SM (Döbereiner et al. 1971, Riet-Correa et al. 1975, Barros et al. 1981) e pela vitamina D (Howerth 1983). Alternativamente, as células gigantes multinucleadas encontradas na mucosa estomacal podem ser o resultado da diferenciação de monócitos e sua fusão induzida pelo 1,25(OH)2D_3, tal como tem sido comprovado *in vitro* (Bar-Shavit et al. 1983 e Abe et al. 1984). Uma sustentação para a teoria de que o 1,25(OH)2D_3 contido em SM é o fator indutor da formação dessas células gigantes, é o fato de que elas aparecem em abundância na mucosa de estômagos que, até o momento, não tinham apresentado nenhum processo de calcificação. Em poucos casos foi possível evidenciar células gigantes com cristais de cálcio delimitados por membranas no seu interior. Na maioria das vezes, os cristais de cálcio parecem crescer dentro das células, ocupando grande parte do citoplasma, sem estar delimitados por membranas e, aparentemente, sem produzir grave dano celular. Em nosso

estudo não há evidências morfológicas de que estes cristais de cálcio sejam fagocitados, pelo contrário, parecem ser um produto endocelular primário. Também foram observados cristais de cálcio nas mitocôndrias destas células. As alterações mitocondriais aqui encontradas são similares às descritas por Kindblom & Guterberg (1988) em células gigantes tipo osteoclasto, observadas em calcinoses tumorais. Este processo de calcificação de tipo mitocondrial não parece estar ligado às concentrações extra-celulares de cálcio, nas intoxicações por SM em coelhos, pois as concentrações séricas nestes animais ao contrário dos bovinos (Sansom et al. 1971), sofrem apenas pequenas variações tal como demonstraram Basude & Humphreys (1975) e Santos et al. (1976).

Depósitos de cristais de cálcio foram vistos em associação a fragmentos celulares recobertos por membranas, semelhantes às vesiculas matriciais (Anderson 1988) e a elementos da matriz extracelular, como foi descrito por Kingma & Roy (1988) nas calcificações arteriolares de ratos intoxicados com vitamina D.

Na aterosclerose humana verificou-se que as células musculares lisas degeneradas liberavam, por exocitose, vesiculas extracelulares, as quais serviam como sítio inicial de deposição para os cristais de cálcio (Anderson 1988); as células musculares lisas do estômago, alteradas pelo $1,25(OH)2D_3$ talvez apresentem um comportamento semelhante. Sendo a matriz extracelular secretada pelas células locais e possuindo características que favorecem as calcificações patológicas (Chen 1988), é possível que o $1,25(OH)2D_3$ contido em SM, agindo sobre a síntese protéica (Laycock & Wise 1983), estimule as células musculares lisas alteradas a sintetizar e secretar novos elementos na matriz extracelular, facilitando a deposição de cristais de cálcio. Sugere-se que todas estas alterações sejam uma expressão fenotípica de uma transcrição de genes ativados pelo $1,25(OH)2D_3$.

O fato de não ter havido diferenças significativas na ação do extrato de SM administrado via sonda gástrica ou via endovenosa, demonstra que o princípio tóxico da planta não necessita passar pelo tubo digestivo para exercer sua ação sobre as diferentes células alvo, indicando que o conjugado intacto é ativo.

O edema na submucosa e na região foveolar da mucosa do estômago, foi encontrado com regularidade nos animais dosificados com SM. Alterações semelhantes foram associadas a uma prolongada azotemia em caninos (Cheville 1979), as quais foram atribuídas a dano capilar e a uma concentração de histamina na zona foveolar e do colo das glândulas gástricas. Este autor associa as altas concentrações de histamina na zona foveolar à presença de grande número de mastócitos, muitos deles em estado de degranulação, sendo encontrados grânulos livres no interstício. Não foi possivel verificar tal mecanismo de indução de edema do estômago observado nos animais neste experimento. Também não foi verificada obstrução linfática, fato que ajudaria a explicar a presença de edema nas lesões.

Embora tenham sido observadas lesões em artérias da submucosa, não foi possível provar a presença de trombose. Usualmente, as alterações arteriais detectadas foram diminuindo em intensidade com a ramificação da árvore vascular.

A etiologia do edema permanece obscura; contudo, sugere-se que o princípio tóxico de SM agiria alterando a permeabilidade vascular diretamente ou através da liberação de mediadores a partir de células lesadas. Estas mudanças da permeabilidade vascular contribuiriam para a formação do edema da submucosa e da lâmina própria, bem como para a produção de focos hemorrágicos.

REFERÊNCIAS

Abe E., Shiina Y., Miyaura K., Hyashi T., Janegasaki S., Saito M., Nishii Y., De Luca H.F. & Suda T. 1984. Activation and fusion induced by 1,25-dihydroxy vitamin D_3 and their relation in alveolar macrophages. Proc. Natl Acad. Sci. 81:7112-7116.

Anderson H.C. 1988. Mechanisms of pathologic calcification. Rheum. Dis. Clin. North. Am. 14:303-319.

Arnold R. 1954. Manchester wasting disease. West Indian Med. J. 3:1-8.

Arnold R.M. & Bras G. 1956. Observations on the morbid anatomy and histology of Manchester wasting disease of cattle in Jamaica, and related conditions in other countries of the Americas. Am. J. Vet. Res. 17:630-639.

Bar-Shavit Z., Teitelbaum S.L., Reitsma F., Hall A., Pegg L.E., Trial J. & Kahn A.J. 1983. Induction of monocytic differentiation and bone resorption by 1,25-dihydroxyvitamin D3. Proc. Natl. Acad. Sci. 80:5907-5911.

Barros S., Pohlenz J. & Santiago C. 1970. Zür Kalzinose beim Schaf. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 77:346-349.

Barros S., Tabone E., Santos M., Andujar M. & Grimaud J.A. 1981. Histological and ultrastructural alterations in the aorta in experimental *Solanum malacoxylon* poisoning. Virchows Arch. (Cell Pathol.) 35:169-175.

Basudde C.D.K. & Humphreys D.J. 1975. The effect of the active principle of *Solanum malacoxylon* on rabbits and inhibition of its action by actinomycin D. Calcif. Tiss. Res. 18:133-139.

Camberos H.R., Davis G.K., Djafar M.I. Simpson C.F. 1970. Soft tissues calcification in guinea pigs fed the poisonous plant *Solanum malacoxylon*. Am. J. Vet. Res. 31:585-596.

Capen C.C., Cole C.R. & Hibbs J.W. 1966. The pathology of hypervitaminosis D in cattle. Path. Vet. 3:350-378.

Carrillo B.J., Tilley J.M., Garces N.N., Gaggino O.P., Ruksan B. & Worker, N.A. 1971. Intoxicación experimental de bovinos con *Solanum malacoxylon*. Gac. Vet., 33:468-484.

Castro, H.R. 1970. Enteque seco, reproducción experimental en ovinos. Rev. Med. Vet. 51:131-136.

Chen T.L., Cone C.M., Morey-Holton E. & Feldman, D. 1982. Glucocorticoid regulation of 1,25(OH)-vitamin D receptors in cultured mouse bone cells. J. Biol. Chem. 267:13564-135569.

Chen, P.T. 1988. Pathologic calcium phosphate deposition in model systems. Rheum. Dis. Clin. North. Am. 14:341-351.

Cheville, N.F. 1979. Uremic gastropathy in the dog. Vet. Pathol. 16: 292-309.

Chineme C.N., Krook L. & Pond W.G. 1976. Bone pathology in hypervitaminosis D, an experimental study in young pigs. Cornell Vet. 66:387-412.

Collier W.A. 1927. Zür Kenntnis einer als Enteque bezeichneten Krankheit der Rinder in der Provinz Buenos Aires. Z. Infekt-Krankh. Parasit. Krankh. Hyg. Hst. 31:81-92.

Culling C.F.A., Allison R.T., Barr W.T. 1985. Cellular Pathology Technique. Cap. 26. Endocrine cells, p. 474-486. 4 ed. Butterworths, London.

Dirksen G., Plank P., Hänichen T. & Spiess A. 1970. Über eine enzootische Kalzinose beim Rind. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 79(4):77-79.

Dirksen G., Plank P., Hänichen T. & Spiess A. 1973. Über eine enzootische Kalzinose beim Rind. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 80(7):148-152.

Döbereiner J., Tokarnia C.H., Costa J.B.D., Campos, J.L.E. & Dayrell M.D.S. 1971, "Espichamento", intoxicação em bovinos por *Solanum malacoxylon*, no pantanal de Mato Grosso. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 6:91-117.

Döbereiner J., Done S.H., Beltran L.E. 1975. Experimental *Solanum malacoxylon* poisoning in calves. Br. Vet. J. 131(2):175-185.

Done S.H., Tokarnia C.H., Dämmrich K. & Döbereiner J. 1976. *Solanum malacoxylon* poisoning in pigs. Res. Vet. Sci. 20:217-219.

Gunther R., Felice L.J., Nelson R.K. & Franson A.M. 1988. Toxicity of a vitamin D_3 rodenticide to dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 193(2):211-214.

Halloran B.P. & De Luca H.F. 1981. Appearance of intestinal cytosolic receptor for 1,25-Dihydroxyvitamin D during neonatal development in the rat. J. Biol. Chem. 256:7338-7342.

Harrington D.D. & Page E.H. 1983. Acute vitamin D_3 toxicosis in horses: case reports and experimental studies of the comparative toxicity of vitamin D_2 and D_3. J. Am. Vet. Med. Assoc. 182(12):1358-1369.

Haschek W.M , Krook L., Kallfelz F.A. & Pond W.G. 1978. Vitamin D toxicity. Initial site and mode of action. Cornell Vet. 68:324-364.

Howerth E.W. 1983. Fatal soft tissue calcification in suckling puppies. J. South Afr. Vet. Assoc. 54(1):21-24.

Kindblom L.G. & Gunterberg B. 1988. Tumoral calcinosis, an ultrastructural analysis and consideration of pathogenesis. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. 96(4):368-376.

Kingma, J.G. & Roy, P.E. 1988. Ultrastructural study of hypervitamin dosis D induced arterial calcification in Wistar rats. Artery 16(1):51-61.

Koh E., Morimoto S., Fukuo K., Itoh K., Hironaka T , Shiraiashi T., Onashi T. & Kumamara Y. 1988. 1,25-Dihydroxy vitamin D_3 binds specifically to rat vascular smooth muscle cells and stimulates their proliferation in vitro. Life Sci. 42(2):215-223.

Krook L., Wassermann R.H., Shively, J.F., Tasmjiam A.H., Brokken T.D. & Morton J.F. 1975. Hypercalcemia and calcinosis in Florida horses: implication of the shrub *Cestrum diurnum* as the causative agent. Cornell Vet. 65(1):26-56.

Laycock J.F. & Wise P.H. 1983. Essential Endocrinology. 2nd ed. Oxford University Press. 371p.

Lignieres J. 1912. Arterioesclerosis epidémica en el ovino. Revta Zootécnica 37:1-7.

Merke J., Hofmann W., Goldschmidt D. & Ritz E. 1987. Demonstration of 1,25(OH)2 vitamin D_3 receptors and action in vascular smooth muscle cells in vitro. Calcif. Tiss. Int. 41:112-114.

Moore F.M., Rudisch M., Richter K. & Faggella A. 1988. Hypercalcemia associated with rodenticide poisoning in three cats. J. Am. Vet. Med. Assoc. 193(9):1099-1100.

Morris K.M.L. 1982. Plant induced calcinosis: a review. Vet. Hum. Toxicol. 24(1):34-48.

Noseda R.P., Cumba S.A., Gimeno E.J., Bandon J.C., Borrajo H., Maida J.C. & Forastieri H. 1976. Reproducción experimental de "enteque seco" por duraznillo blanco, su tratamiento y posterior estudio comparativo de animales tratados y no tratados. Gac. Vet. 38(309):105-112.

Riet-Correa F., Riet-Correa I. & Bellagamba C. 1975. Calcificación metastática enzoótica (Enteque seco) en bovinos del Uruguay. Veterinaria 12(60):15-23.

Riet-Correa F., Méndez M.C., Schild A.L., Santos E.C. & Scarsi R.M. 1981. Experimentos em coelhos sugerem *Nierembergia veitchii* como causa de calcinose enzoótica em ovinos no Rio Grande do Sul. Pesq. Agropec. Bras. 16:727-732.

Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Wasserman, R. & Krook L. 1987. Enzootic calcinosis in sheep caused by the ingestion of *Nierembergia veitchii* (Solanaceae). Pesq. Vet. Bras. 7:85-95.

Ross E., Simpson C.F., Rowland L.O. & Harms, R.H. 1971. Toxicity of *Solanum malacoxylon* to chicks. Poultry Sci. 50(3):870-873.

Rossi F.M., Dallorso M.E., Daskal H.E., Gaggino O. & Leiva A. 1969. Reproducción experimental de enteque seco en conejo. 1. Lesiones cardiovasculares. Gac. Vet. 31(230):415-426.

Sansom B.F., Vagg, M.S. & Döbereiner J. 1971. The effects of *Solanum malacoxylon* on calcium metabolism in cattle. Res. Vet. Sci. 604-605.

Santos M.N., Nunes V.A., Nunes I.J., Barros S., Wasserman R.H. & Krook L. 1976. *Solanum malacoxylon* toxicity: inhibition of bone resorption. Cornell Vet. 66(4):565-588.

Stevenson R.G., Palmer N.C. & Finley G.G. 1976. Hypervitaminosis D in rabbits. Can. Vet. J. 17(2):54-57.

Wassermann R.H. 1975. Active vitamin D-like substances in *Solanum malacoxylon* and other calcinogenic plants. Nutr. Rev. 33(1):1-5.

Wassermann R.H., Corradino R.A. & Krook L.P. 1975. *Cestrum diurnum:* omestic plant with 1,25-dihydroxycholecalciferol-like activity. Biochem. Biophys. Res. Commun. 62(1):85-91.

Wasserman R.H., Henion J.D. & Haussler M.R. 1976. Calcinogenic factor in *Solanum malacoxylon:* Evidence that it is 1,25-dihydroxyvitamin D_3 glicoside. Science 199:853-854.

Worker N.A. & Carrillo B.J. 1967. "Enteque seco", calcification and wasting in grazing animals in Argentina. Nature 215:72-74.

Pesq. Vet. Bras. 14(1):43-48, jan./mar. 1994

"CARA INCHADA" DOS BOVINOS E DEFICIÊNCIAS MINERAIS

A "cara inchada" dos bovinos (CI) é uma doença que acomete particularmente animais jovens sobretudo no Centro-Oeste do Brasil. Para alguns a etiologia da doença tem sido atribuida a desequilíbrios ou deficiências minerais. No presente artigo os autores realizaram uma revisão exaustiva da literatura relevante ao assunto, demonstrando, com base nos resultados apresentados, que não existem evidências de que a CI esteja relacionada a uma ou mais causas ligadas ao metabolismo de elementos minerais. Por outro lado, a administração experimental de antibiótico mostrou-se eficaz na profilaxia da doença que se manifestou através de casos de periodontite nos lotes de controle.

A doença vulgarmente denominada "cara inchada" dos bovinos (CI) caracteriza-se por processo inflamatório peridentário, uma periodontite purulenta crônica que compromete as estruturas de sustentação dos dentes (gengiva, ligamentos para e peridentários e osso alveolar), ocasionando afrouxamento e perda de dentes pré-molares e molares, sobretudo maxilares. As lesões produzem nos animais afetados odor bucal fétido característico e um aumento do volume ósseo correspondente à região afetada. Döbereiner et al. (1974) estudaram e descreveram pormenorizadamente o quadro clássico da doença, observando que as lesões peridentárias podem ser encontradas em bezerros a partir de 4 semanas de idade e que os bovinos seriam susceptíveis à doença até aproximadamente os 2 anos e meio de idade, quando se completa a fase de dentição. Os autores sugeriram ainda como causa mais provável da doença, um ou mais fatores ligados à alimentação dos animais.

Investigação inicial da CI

Dentre as causas alimentares possivelmente envolvidas na gênese da CI, a que recebeu desde o início a maior ênfase da pesquisa, foi uma provável deficiência ou desequilíbrio de minerais na dieta dos rebanhos. Não obstante, ao mesmo tempo em que eram iniciados os primeiros experimentos para estudar o eventual envolvimento de minerais na ocorrência da doença, paralelamente foram conduzidos alguns ensaios para investigar outras causas alimentares, não minerais. No primeiro desses trabalhos, bovinos de várias idades, portadores de lesões peridentárias progressivas da CI, recuperaram-se alguns meses após serem transferidos dos locais em que contraíram a doença (pastos de capim colonião, com suplementação mineral), para uma área de pastagens de cerrado, considerada indene, constituída de capim jaraguá + pasto nativo, onde recebiam sal comum como única suplementação mineral (Döbereiner et al. 1975).

Num segundo experimento, o agravamento das lesões peridentárias em animais doentes ou o aparecimento da doença em animais inicialmente sadios, tanto em pastagens de capim colonião "sujas" (com plantas invasoras) como naquelas "limpas" (livres de invasoras), indicou que a doença não estaria associada a alguma planta tóxica desconhecida (Döbereiner et al. 1976).

Em duas fazendas, dois grupos de animais com quadro clínico da CI, mantidos confinados em curral, recuperaram-se das lesões peridentárias e exibiram pronunciada melhora do seu estado geral, após poucos meses de tratamento com ração balanceada, produzida com ingredientes adquiridos em região indene. Os lotes controles que permaneceram nos pastos, tiveram seu quadro clínico agravado ou morreram no mesmo período do experimento (Rosa et al. 1976).

Como a doença já pode ser verificada em bezerros com poucas semanas de idade, aventou-se a hipótese de que o fator ou fatores determinantes da CI pudessem ser veiculados pelo leite materno. Esta hipótese pôde ser corroborada parcialmente mediante um experimento em que ocorreu agravamento do quadro clínico ou morte de bezerros com CI mantidos estabulados e sendo aleitados duas vezes por dia por suas respectivas mães. No decorrer do experimento estas permaneceram em pastos de elevada incidência da doença, juntamente com os bezerros CI testemunhas e suas mães. Além do leite materno, os bezerros estabulados recebiam capim verde picado, colhido diariamente em área de cerrado indene (Döbereiner et al. 1987).

Finalmente, foi afastada a hipótese de que a CI teria a ver com a queimada da mata original, por ocasião da formação das pastagens: animais com CI, mantidos em

pastos formados sem uso do fogo, tiveram seu quadro clínico evoluindo de modo semelhante ao dos controles, mantidos em pastos formados do modo tradicional (Döbereiner et al. 1978).

Investigação de causas minerais

Concomitantemente com os ensaios anteriores, deu-se início a uma série de experimentos concebidos para investigar o eventual envolvimento de minerais na etiologia da CI.

Em um dos primeiros estudos realizados, 300 novilhos com cerca de 15 meses de idade, sadios, foram introduzidos, de uma região onde não ocorria a CI, em uma fazenda positiva para a doença, e submetidos a 3 tratamentos com misturas minerais. Ao cabo de 1 ano, todos permaneciam sadios, com desempenho normal e sem diferenças entre os 3 tratamentos minerais (Rosa & Döbereiner, dados não publicados). À época sugeriu-se que, ao serem introduzidos na fazenda problema, os animais já teriam ultrapassado a idade em que seriam mais susceptíveis a contrair a doença.

Cutress & Ludwig (1969), ao reverem a literatura sobre uma doença periodontal de ovinos ("broken mouth") na Nova Zelândia, informaram que a condição ocorria em áreas com um histórico de doenças que respondem ao selênio. Por outro lado, Tokarnia et al. (1971) registraram a ocorrência da CI em região deficiente em cobre. Com base nestas informações, decidiu-se testar o efeito de cobre e de selênio + vitamina E na prevenção ou na cura da doença. Em um experimento, 200 vacas prenhes foram separadas em 4 grupos de 50, recebendo cada grupo os seguintes tratamentos, 1 mês antes e 1 mês após o parto: 1. Injeção de cobre; 2. Injeção de selênio + vitamina E; 3. Injeção de cobre e selênio + vitamina E; 4. Controle, sem injeções. Por ocasião da desmama dos bezerros a incidência de lesões de CI nos mesmos esteve em torno de 32%, independentemente do tratamento empregado (Döbereiner & Rosa, dados não publicados). Num outro ensaio, em outra propriedade, de um grupo de 82 bezerros sadios, de 1 a 4 meses de idade, 41 foram injetados com glicinato de cobre, enquanto a outra metade permaneceu como testemunha. Após 4 meses, a incidência de CI foi, respectivamente, 19,5 e 17% para os bezerros injetados e não injetados. Em seguida, os animais doentes de ambos os grupos receberam uma injeção de cobre e uma de selênio + vitamina E. Exames periódicos dos animais tratados não mostraram quaisquer sinais de recuperação que pudessem ser relacionados aos tratamentos instituídos (Rosa, dados não publicados).

Finalmente, um terceiro ensaio, semelhante aos anteriores, foi conduzido com bezerros portadores de CI, desta vez em pastagem cultivada de cerrado: 4 lotes de 10 bezerros cada um receberam os mesmos tratamentos injetáveis anteriores (1. Cobre; 2. Selênio + vitamina E; 3. Cobre e selênio + vitamina E; 4. Controle, sem injeções), não sendo possível observar, através de exames periódicos da cavidade bucal, qualquer melhora dos animais tratados em relação aos testemunhas (Döbereiner & Rosa, dados não publicados).

Apesar desses resultados, vários autores relacionaram a deficiência de cobre, direta ou condicionada, como um dos fatores associados à ocorrência da doença (Fabiani et al. 1980, Camargo et al. 1981, Nazário 1984), sem contudo comprovar experimentalmente o papel do elemento. Camargo (Comunicação pessoal) reportou a recuperação de 10 bezerros portadores de lesões de CI mediante o tratamento de cobre (glicinato) injetável. Entretanto, Moraes et al. (1994), em face dos resultados de análises de amostras de fígado, sugeriram o não envolvimento dos elementos cobre, molibdênio, cobalto, zinco, manganês e ferro na etiologia da doença. Com respeito às análises de forrageiras, concluiram não existir uma relação entre a CI e deficiência de cobre direta ou condicionada por excesso de molibdênio (molibdenose).

Durante alguns anos o estudo da doença esteve interrompido, até que, com a disseminação de pastagens de braquiária em solos pobres de cerrado, se constatou que a enfermidade incidia com igual severidade nestas áreas. Os estudos foram então retomados e, a partir desse ponto, formaram-se duas correntes distintas de pensamento: uma que considera a CI como a manifestação clínica de uma osteodistrofia fibrosa generalizada, caracterizada particularmente por marcada reabsorção do osso alveolar (Nunes et al. 1979, 1991, Nunes & Chquiloff 1986, Brito 1983), e outra que reputa a doença como um processo inflamatório local, primariamente infeccioso, cujas lesões iniciais na gengiva estender-se-iam às demais estruturas de fixação dos dentes (Blobel et al. 1984, 1987, Dutra et al. 1986, Döbereiner et al. 1990).

Nesta segunda fase de estudos na área da nutrição mineral, alguns resultados são contraditórios, outros foram interpretados de maneira errônea e alguns experimentos apresentam sérias falhas metodológicas. Dentre os erros na metodologia experimental, os mais freqüentes foram: 1. falta de animais testemunhas ou controles sadios ou falta de tratamento controle; 2. falta de rotação periódica dos animais nos pastos (este detalhe é importante porque se sabe que, numa mesma fazenda, alguns pastos podem curar a CI, enquanto outros a produzem); 3. inferências a partir de parâmetros bioquímicos de animais doentes (como os animais com lesões peridentárias não se alimentam bem, as alterações bioquímicas eventualmente observadas podem ser o efeito e não a causa da doença); 4. tratamento de animais fora do ambiente em que contraíram a doença (como foi demonstrado experimentalmente por Döbereiner et al. 1975, a simples transferência de animais com CI para uma área indene resulta em cura da doença).

Nazário (1984) relatou 100% de eficiência na prevenção da CI em bezerros nascidos no final do período da seca e durante a estação chuvosa, através do fornecimento às mães de uma mistura mineral "especial". Com vacas paridas em outros períodos do ano os resultados não foram os mesmos. Embora a incidência da CI nas fa-

zendas ensaiadas fosse baixa (10 - 20%), este foi o único experimento em que se reportou prevenção total da doença mediante o uso de suplementação mineral. Lamentavelmente, lacunas importantes deixaram de ser preenchidas, tais como: composição das demais misturas minerais (controles), consumo médio de minerais e rotação periódica dos animais nas pastagens. Além disso, a mistura denominada "especial" em nada difere de inúmeras outras que não demonstraram capacidade de controlar a CI. A composição da mistura utilizada é a seguinte: fósforo – 56.000 ppm; cálcio – 72.200 ppm; magnésio – 800 ppm; sódio – 208.000 ppm; ferro – 1.000 ppm; cobre – 425 ppm; cobalto – 6 ppm; manganês – 600 ppm; zinco – 1.820 ppm; iodo – 84 ppm.

Sousa et al. (1986a) relataram os resultados de um experimento em que se compararam 10 misturas minerais diferentes, sendo uma delas suplementada com farelo de algodão, na eventual recuperação de bezerros portadores de CI (15 por tratamento) e no aparecimento da doença em bezerros sadios (2 por tratamento). Ao término do trabalho (387 dias), os resultados (Quadro 1) não permitiram qualquer conclusão definitiva, sugerindo-se apenas que misturas minerais mais ricas em macro e microelementos "aparentemente reduziram a severidade das lesões orais da doença, mas não recuperaram todas as lesões". Embora não tenha havido uma clara superioridade de algum tratamento em relação aos demais, a "mistura 8" (Quadro 1) foi selecionada dentre as demais por ter promovido, aparentemente, maior ganho e menor mortalidade. Esta mistura, com ligeiras modificações, foi testada em dois experimentos posteriores, conduzidos com o objetivo de prevenir o aparecimento da doença em bezerros até a desmama, através do tratamento das mães desde o terço final da prenhês.

Em um desses experimentos a "mistura 8" foi contrastada com um tratamento constituído apenas de sal comum e com o manejo rotineiro da fazenda. Os animais experimentais foram as vacas no final de gestação e o parâmetro testado, a ocorrência da CI na progênie até a época da desmama. Os resultados mostraram 67% de incidência da CI nos bezerros nascidos de vacas que receberam apenas sal comum, 60% nos bezerros de vacas que receberam a "mistura 8" e 48% nos bezerros de vacas submetidas ao manejo rotineiro da fazenda (Sousa et al. 1986b). No segundo experimento foram utilizadas 180 vacas em final de gestação, sendo 60 com lesões peridentárias de CI e 120 sadias, distribuídas homogeneamente por 3 tratamentos: 1. Mistura mineral de rotina da fazenda. 2. "Mistura 8" modificada. 3. Mistura comercial específica contra a CI. Ao término do experimento, concluiu-se que as misturas minerais demonstraram relativa capacidade de reverter os sintomas em vacas inicialmente doentes e foram mais eficientes em prevenir a instalação da doença em vacas sadias e nos bezerros nascidos (Nunes et al. 1991). Entretanto, a metodologia experimental empregada não permite tais inferências, uma vez que o experimento não contou com um grupo testemunha, sem suplementação mineral ou recebendo apenas sal comum. A única inferência válida do trabalho foi uma clara superioridade do tratamento 3 (mistura comercial contra a CI) em relação aos demais no tocante à prevenção da CI nos bezerros: enquanto nos tratamentos 1 e 2 a incidência da doença à desmama foi de 26 e 27,6% respectivamente, no tratamento 3 foi de 8,5% (Quadro 2). Na formulação da "mistura mineral específica" para o controle da CI (tratamento 3) não há informação da natureza de todos os ingredientes, como aditivos e palatabilizantes. Embora aparentemente eficaz no controle da doença, carece de fun-

Quadro 1. *Número de animais (inicial, final, mortes, eliminados), recuperados, peso médio inicial, peso médio final ajustado por covariança, ganho médio de peso e consumo de minerais, no período experimental de 387 dias* (Souza et al. 1986a)

Tratamentos[a]	Número de animais							Peso médio inicial (kg)	Peso médio final ajustado (kg)	Ganho médio de peso (kg)[c]	Consumo de minerais[d] g/cab/dia
	Inicial		Final								
	Doente	Sadio	Doente	Sadio	Morte	Eliminado[b]	Recuperado				
1	15	2	11	1	4		1	102,6	122,3	20,1^{y}	37,26
2	15	2	9	2	3		3	111,6	152,6	41,0^{xy}	41,74
3	15	2	6	2	3	1	5	99,1	132,9	33,8^{xy}	43,18
4	15	2	8	1	5	1	2	105,9	135,2	29,4^{xy}	49,20
5	15	2	9	0	6		2	101,5	114,8	13,3^{y}	53,44
6	15	2	10	2	2		3	99,5	171,3	71,8^{xy}	49,10
7	15	2	9	2	5		1	95,2	145,9	50,7^{xy}	52,14
8	15	2	12	2	1		2	97,6	183,6	86,0^{x}	63,55
9	15	2	10	2	3	1	1	105,5	150,6	45,1^{xy}	61,09
10	15	2	7	2	5		3	97,7	138,6	40,9^{xy}	57,91

[a] Tratamentos: 1. NaCl; 2. NaCl + microelementos; 3. Trat. 2 + 800 ppm de P; 4. Trat. 2 + 1.000 ppm de P; 5. Trat. 2 + 800 ppm de P + 1.035 ppm de Ca; 6. Trat. 5 + 0,59 kg/animal/dia de farelo de algodão; 7, 8, 9 e 10. Trat. 5 + 14, 20, 26 e 32 ppm de Cu, respectivamente.

[b] Animais retirados do experimento devido a acidentes no manejo.

[c] Médias seguidas das mesmas letras (xy) na mesma coluna, não são estatisticamente diferentes ($P > 0,05$) pelo Teste de Duncan.

[d] Dados não analisados estatísticamente (consumo em grupo).

Quadro 2. *Freqüência de bezerros nascidos e desmamados, sadios e doentes, em relação ao número de vacas, e mortalidade até o desmame, nos três tratamentos* (Nunes & Guimarães 1991)

Tratamentos	Nº de vacas	Bezerros							
		Nascidos		Desmamados				Mortalidade até à desmama	
				Sadios		Doentes			
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Mistura 8	58	56	96,6	37	74,0	13	26,0	6	10,7
Mistura rotineira da fazenda	57	55	96,5	34	72,3	13	27,6	8	14,5
Mistura comercial especial	58	52	89,7	43	91,5	4[a]	8,5	5	9,6

[a] Significativo ao nível de $P < 0,05$.

damentação científica a explicação do mecanismo de sua ação. A utilização de aditivos de ação antibiótica em suplementos minerais (estes servindo de veículo) ou no arraçoamento de bezerros, tem-se revelado eficiente na profilaxia e no tratamento da CI (Döbereiner et al. 1990b, Tims et al. 1992).

Alguns autores consideram a CI como uma manifestação clínica de uma osteodistrofia fibrosa generalizada, decorrente de um hiperparatireoidismo de origem nutricional (Nunes et al. 1979, Brito 1983, Nunes & Chquiloff 1986, Santos et al. 1991). Estas alterações teriam como causa provável uma deficiência de cálcio na dieta de pasto dos animais. Soni (1984) relatou os resultados de estudos osteopatológicos conduzidos com material obtido de bovinos com CI provenientes do experimento de Sousa et al. (1986a). O autor concluiu que o cálcio teve uma ação "sumamente benéfica" sobre as estruturas do periodonto, assim como nos processos de recuperação óssea, enquanto a oferta de cobre em níveis elevados teve efeitos negativos, causando osteonecrose. Entretanto, o mesmo autor informa que as alterações do periodonto não sofreram reversão, mantendo-se praticamente inalteradas em todos os tratamentos. Sugeriu ainda que o tratamento 5 (Quadro 1) foi o que mais favoreceu a recuperação das lesões ósseas e que os tratamentos 7 a 10 tiveram a severidade das lesões agravadas em relação direta com o nível de cobre ofertado.

Com o objetivo de testar o efeito de níveis elevados de cálcio e de fósforo nas alterações ósseas de animais com CI, foi conduzido um experimento envolvendo 40 bezerros sadios e 40 portadores de lesões peridentárias, que foram submetidos a diversos tratamentos, com níveis gradativamente maiores de P (569, 1.213, 1.875 e 2.500 ppm) e de Ca (1.024, 2.183, 3.342 e 4.500 ppm), com ou sem adição de uréia. Mais uma vez os resultados foram inconclusivos, sem evidências definidas da superioridade de algum tratamento em relação aos demais, na recuperação de animais doentes ou na prevenção da doença em animais inicialmente sadios (Sousa et al. 1986b). Em um experimento realizado para comparar diferentes fontes de fósforo no desempenho de novilhos de sobreano (Nicodemo 1988), conduzido nos mesmos pastos de elevada incidência da CI dos experimentos de Sousa et al. (1986a,b), um grupo de animais suplementados apenas com fósforo (sem cálcio) teve desempenho similar ou superior ao de outros grupos suplementados com cálcio e fósforo e não apresentou alterações clínicas características da CI. Milhares de análises de amostras de gramíneas colhidas em áreas de cerrado, mostram o cálcio em níveis ligeiramente superiores ou no limite das concentrações consideradas como adequadas para o desempenho normal de bovinos. Todavia, este não é um argumento válido para relacionar a deficiência do elemento à ocorrência da CI, pois a doença foi diagnosticada pela primeira vez em áreas de solos férteis, onde os níveis de cálcio nas gramíneas, como colonião, jaraguá e gordura, chegam a ser 4 vezes superiores ao mínimo recomendado para bovinos (Oliveira 1972, Schinchariol Jr. 1973, Nazário 1984). Por outro lado, a sugestão de que os níveis de oxalatos em tais gramíneas poderiam estar interferindo drasticamente na utilização do cálcio pelos bovinos, não encontra respaldo na literatura científica, que considera esta espécie animal pouco susceptível aos efeitos daqueles compostos (Blaney et al. 1982).

Underwood (1981), numa comparação do cálcio com o fósforo, enfatizou a pouca probabilidade de ocorrência de uma deficiência espontânea de cálcio em bovinos sob dieta exclusiva de pastos, apontando as seguintes diferenças em relação ao fósforo: 1. a maioria das espécies forrageiras encerra cálcio em concentrações superiores às de fósforo; 2. os solos deficientes em cálcio são menos comuns do que os solos deficientes em fósforo; 3. os níveis de cálcio nas forrageiras não declinam acentuadamente com a maturidade e envelhecimento da planta, como acontece com o fósforo. Segundo Underwood (1977), para que se estabeleça com segurança o envolvimento de um nutriente, mineral ou não, na etiologia de algum problema do rebanho, é preciso que dois requisitos básicos sejam preenchidos: 1. Devem ocorrer repetidas e significantes respostas à suplementação do nutriente, e só dele, à dieta dos animais. 2. Deve ocorrer o desencadeamento do quadro clínico característico da deficiência com o emprego de uma dieta pobre no nutriente considerado.

Com base na revisão anterior, em que se levantaram praticamente todos os resultados de pesquisa relevantes ao assunto, na área alimentar e nutricional, *não se pode afirmar* com isenção e honestidade, à luz dos postulados de Underwood, acima enunciados, *que existam evidências concretas de que o quadro clínico conhecido como "cara inchada" dos bovinos seja causado*, direta ou indiretamente, *por uma ou mais deficiências ou desequilíbrios de minerais na dieta de pasto dos animais*.

Além da falta de evidências científicas de que a CI tenha uma etiologia mineral, conforme se tentou demonstrar, existem ainda alguns aspectos relativos ao problema, que não derivam diretamente de trabalhos experimentais, mas decorrem da experiência, das observações, do raciocínio lógico, do bom senso e do conhecimento de causa daqueles que, durante anos a fio conviveram com a doen-

ça no campo, abrindo e examinando bocas, vendo as alterações peridentárias estacionarem, regredirem naturalmente ou evoluírem até a morte dos animais. Alguns desses aspectos merecem ser aqui destacados:

1. Lesões gengivais de CI já podem ser observados em bezerros com apenas 4 semanas de idade. Não se tem conhecimento, através da literatura específica, que a vaca, por mais severa que seja a deficiência de cálcio em sua dieta durante a gestação, possa produzir um bezerro já deficiente no elemento. O que se sabe é que, fisiologicamente, a gestação é uma função prioritária do animal, e que a fêmea, quase invariavelmente, produzirá uma cria sadia, mesmo que à custa da exaustão de suas reservas orgânicas. Após a parição, a função láctea assume o papel preponderante na economia da vaca, que, novamente, ainda que às expensas de seu depauperamento físico, produzirá, pelo menos nos primeiros meses, leite em quantidade e com qualidade para nutrir adequadamente o bezerro em seus estágios iniciais de vida. É por esta razão que, especialistas em nutrição mineral, consideram a categoria de bezerros durante e alguns meses após o aleitamento, como a menos susceptível à ocorrência de deficiências minerais em geral.

2. Bezerros que perderam a mãe prematuramente ("guachos") não apresentaram maior susceptibilidade à CI. O exame clínico de considerável número de bezerros dessa categoria, que passaram a depender precocemente apenas das pastagens para o atendimento de suas demandas nutricionais, nunca indicou uma maior incidência clínica da doença nestes animais, em relação aos demais bezerros dos mesmos rebanhos. Como se sabe, o "guacho" é o epíteto da subnutrição e, supondo que a CI seja de origem nutricional, sua incidência, forçosamente, teria que ser proporcionalmente maior em tais animais.

3. O abaulamento ósseo da face de animais com quadro clínico de CI nada tem a ver com a osteodistrofia fibrosa. Na "cara inchada" do cavalo, tantas vezes citada pelos teóricos da osteodistrofia fibrosa, o abaulamento da cara é difuso, bilateral e simétrico. Geralmente não há lesões periodontais progressivas, afrouxamento e perda de dentes. Na CI dos bovinos o abaulamento ósseo pode estar ausente, se presente é localizado, pode ser uni ou bilateral e nem sempre é simétrico. Sua presença está sempre associada à existência e severidade de lesões peridentárias. Não existe tumefação óssea sem lesões do periodonto, embora estas possam existir sem abaulamento ósseo. Quando ocorrem, as tumefações ósseas sempre acompanham as lesões periodontais e nunca as precedem. De igual modo, o afrouxamento de dentes, quando ocorre, acompanha as lesões peridentárias e está associado com sua gravidade, e jamais as precede. Quando as lesões são curadas ou quando cicatrizam, como ocorre após a queda de dentes, o abaulamento ósseo regride ao ponto de notar-se apenas um pequeno "caroço" onde antes havia uma convexidade do osso maxilar. Como raramente os dentes mandibulares são afetados, igualmente raro é notar-se qualquer aumento de volume da mandíbula.

4. A redução drástica da incidência da CI nos últimos anos nada tem a ver com a suplementação mineral. O argumento muito utilizado pelos que advogam uma causa mineral para a CI, de que o quase desaparecimento da doença nos últimos anos se deve a uma adequada suplementação mineral dos rebanhos em áreas de ocorrência da doença, não encontra respaldo na veracidade dos fatos. É verdade que a CI praticamente não constitui mais problema nas áreas de pastagens de cerrado, mas este fato, em vez de representar evidência da etiologia mineral da doença, indica o contrário, pois, admitindo-se que a doença despareceu do cenário em decorrência da suplementação mineral apropriada, ter-se-ia que admitir, "ipso facto", que a suplementação mineral dos rebanhos em tais áreas é hoje de alto nível e adotada pela maioria. Qualquer um com um pouco de conhecimento sobre o assunto sabe, entretanto, que isso está longe de ser verdade. A realidade do fato, para quantos queiram admití-lo, é que a CI decresce gradativamente de incidência nas áreas onde ocorre, e esse decréscimo é muito mais rápido nas pastagens de solos de cerrado, mesmo que não haja suplementação mineral. Portanto, um último argumento contra a teoria de um etiologia mineral para a CI: à medida que as pastagens envelhecem e se tornam menos capazes de atender as demandas nutricionais dos bovinos que delas se utilizam, a incidência da doença também regride e tende ao desaparecimento (Döbereiner 1990a).

Sumarizando, tendo em conta toda a literatura pertinente ao assunto, considerada relevante a esta revisão, pode-se afirmar, com base nos resultados publicados, que não existem evidências de que a suplementação mineral, isoladamente, seja capaz de promover, direta ou indiretamente, a cura das lesões peridentárias da CI em animais doentes ou prevenir o seu aparecimento em animais sadios.

REFERÊNCIAS

Blaney B.J., Gartner R.J.W. & Head T.A. 1982. The effects of oxalate in tropical grasses on calcium, phosphorus and magnesium availability to cattle. J. Agric. Sci., Camb., 99:533-599.

Blobel H., Döbereiner J., Lima F.G.F. & Rosa I.V. 1984. Bacterial isolations from "cara inchada" – lesions of cattle. Pesq. Vet. Bras. 4(2):73-77.

Blobel H., Döbereiner J., Rosa I.V., Lima F.G.F. & Dutra I.S. 1987. [Bacterial investigations of a periodontal disease – cara inchada – in Brazilian cattle.] Tierärztl. Umschau 42:152-157.

Brito L.A.B. 1983. Aspectos morfológicos do periodonto de bovinos com "cara inchada". Tese de Mestrado, Esc. Veterinária, UFMG, Belo Horizonte. 48 p.

Camargo W.V.A., Veiga J.S. & Conrad J.H. 1981. Cu, Mo, S, Zn periodontitis in Brazilian cattle, p. 47-49. In: McHowell J., Gawthorne J.M. & White C.L. (ed.) Trace Element Metabolism in Man and Animals – 4. Australian Academy of Science, Canberra.

Cutress T.W. & Ludwig T.G. 1969. Periodontal disease in sheep. I. Review of literature. J. Periodontology 40:529-534.

Döbereiner J. 1990a. [Towards the etiology of "cara inchada", a periodontal disease of young cattle in Brazil.] Dtsch. Tierärztl. Wschr. 97:482-490.

Döbereiner J., Inada T. & Tokarnia C.H. 1974. "Cara inchada", doença peridentária em bovinos. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 9:63-85.

Döbereiner J., Chaves J.A., Rosa I.V. & Houser R.H. 1975. Efeito da transferência de bovinos com "cara inchada" (Doença peridentária) para pastos de região indene. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 10:99-103.

Döbereiner J., Rosa I.V. & Lazzari A.A. 1976. "Cara inchada" (Doença peridentária) em bezerros mantidos em pastos de *Panicum maximum*. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 11:43-47.

Döbereiner J., Rosa I.V. & Lazzari A.A. 1987. Efeito do leite materno sobre as lesões peridentárias da "cara inchada" em bezerros. Pesq. Vet. Bras. 7(3):97-99.

Döbereiner J., Schenk J.A.P. & Briso J.A.L. 1978. Experimento com bezerros afetados pela "cara inchada" (Doença peridentária) em pasto formado sem emprego de fogo. XVI Congr. Bras. Med. Vet., Salvador, Bahia, 22-27 out. (Resumo)

Döbereiner J., Rosa I.V., Dutra I.S., Pereira A.R. & Blobel H. 1990b. Efeito da espiramicina na profilaxia da "cara inchada" dos bovinos. Pesq. Vet. Bras. 10(1/2):27-29.

Dutra I.S., Kanoe M. Blobel H. 1986. Atividades enzimáticas e endotóxicas de bactérias isoladas de lesões peridentárias da "cara inchada" dos bovinos. Pesq. Vet. Bras. 6(2):59-63.

Fabiani F., Bayer L.C.G., Veiga J.S., Oliveira J.O., Fernandes N.S., Camargo W.V.A. & Santiago A.M.H. 1980. Contribuição ao estudo da "cara inchada" em bovinos. Revta Criadores, S. Paulo, 50(609):80-81.

Moraes S.S., Silva G.N. & Döbereiner J. 1994. Microelementos minerais e a "cara inchada" dos bovinos. Pesq. Vet. Bras. 14(1):25–33.

Nazário W. 1984. Prevenção da "cara inchada" pelo uso de suplemento mineral adequado a certas épocas do ano. Revta Bras. Med. Vet. 6(2):33-38.

Nicodemo M.L.F. 1988. Efeito de diferentes fontes de fósforo na suplementação mineral de novilhos nelorados em pastejo. Tese de Mestrado, Esc. Veterinária, UFMG, Belo Horizonte. 162 p.

Nunes V.A., Viana J.A.C. & Nunes I.J. 1979. Doença periodontal ("cara inchada") em bovinos do Estado de Goiás. Aspectos morfológicos. Arqs Esc. Vet., UFMG, Belo Horizonte, 21:283-296.

Nunes V.A. & Chquiloff M.A.G. 1986. Doença periodontal ou "cara inchada" do bovino. Cad. Téc. Esc. Vet., UFMG, Belo Horizonte, (1):3-8.

Nunes V.A. & Guimarães R.F.C. 1991. Mineralização de vacas prenhes no controle da "doença periodontal" dos bezerros. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 42(2):169-179.

Oliveira J.O. 1972. A "cara inchada" e o fósforo. Revta Criadores, S. Paulo, 42(507):62-63.

Rosa I.V., Carvalho J.C., Houser R.H. & Döbereiner J. 1976. Influência de ração balanceada sobre a "cara inchada" (Doença peridentária) de bezerros. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 11:59-63.

Santos B.M., Nunes V.A., Nunes I.J., Viana J.A.C., Souza J.C. & Costa C.P. 1991. Osteodistrofias de frontal de bovinos dos Estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 43(1):61-70.

Schinchariol Jr. U. 1973. Contribuição ao estudo da nutrição mineral de bovinos criados na região do Rio Negro, Mato Grosso. Trabalho de Graduação em Medicina Veterinária, Fac. Med. Vet. e Agronomia, Unesp-Jaboticabal. 32 p.

Soni C.A. 1984. Influência do cálcio, do fósforo e do cobre na "doença periodontal" do bovino. Tese de Mestrado, Esc. Veterinária, UFMG, Belo Horizonte. 51 p.

Sousa J.C., Gomes R.F.C., Viana J.A.C., Nunes V.A., Schenk J.A.P., Rosa I.V. & Guimarães E.B. 1986a. Suplementação mineral em bovinos com doença periodontal ("cara inchada"). 1. Aspectos nutricionais. Revta Soc. Bras. Zootec. 15(1):1-16.

Sousa J.C., Gomes R.F.C. & Rosa I.V. 1986b. Estudo da doença "cara inchada" dos bovinos. Proj. 006.80.037/9, Embrapa-CNPGC, Campo Grande, MS.

Tims F.M., Dutra I.S., Matsumoto T. & Döbereiner J. 1992. Eficiência da Virginiamicina na recuperação de bezerros com a doença peridentária "cara inchada". Pesq. Vet. Bras. 12(3/4):77-80.

Tokarnia C.H., Guimarães J.A., Canella C.F.C. & Döbereiner J. 1971. Deficiência de cobre e cobalto em bovinos em algumas regiões do Brasil. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 6:61-77.

Underwood E.J. 1977. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 4th ed. Academic Press, New York. 545 p.

Underwood E.J. 1981. The Mineral Nutrition of Livestock. 2nd ed. Commonw. Agric. Bureaux, England. 180 p.

IVAN VALADÃO ROSA
JÜRGEN DÖBEREINER

Embrapa-CNPGC, C.P. 154, Campo Grande, MS 79002-970, e
Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47,
Seropédica, RJ 23851-970.